

Aus dem Pathologischen Institut
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Kirchner

**Reklassifikation gastroentero-pankreatischer neuroendokriner Tumoren (GEP-NET)
am Pathologischen Institut der LMU München**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Christina Cäcilia Reiter

aus
Eggenfelden

2018

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Thomas Knösel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Christoph Auernhammer
PD Dr. Sebastian Kobold

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 27.02.2018

Inhalt

1. Einführung	6
2. Zielsetzung der Arbeit.....	10
3. Material und Methode	11
3.1. Patientenkollektiv	11
3.2 Verwendete Klassifikationen	13
3.2.1 „Alte“ Klassifikation nach Kriterien der WHO von 1980 und 2000	13
3.2.2 „Neue“ Klassifikation nach Kriterien der WHO von 2010.....	14
3.2.3 TNM Stadieneinteilung gemäß der siebten Auflage 2010 (Wittekind 2005).....	15
3.3 TMA (= tissue-micro-array)	18
3.4 Bestimmung des Ki-67 Proliferationsindex	18
3.5 Statistische Auswertung.....	19
4. Ergebnisse	20
4.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs.....	20
4.2 Morphologie des Tumors, Tumordurchmesser, Ki-67 Proliferationsindex und Mitosezahl	21
4.3 TNM und pathologisches Stadium nach Kriterien der 7. Auflage 2010 (Wittekind C. 2010)	24
4.4 Re-klassifizierung des Patientenkollektivs.....	26
4.4.1 Nach neuesten Kriterien der WHO 2010.....	26
4.4.2 Im Vergleich WHO 2000 und WHO 2010.....	26
4.5 Korrelation von klinisch-pathologischen Parametern mit der Graduierung der WHO 2010	27
4.5.1 Alter, Geschlecht und Lymphknotenmetastasierung (pN)	27
4.5.2 Fernmetastasierung (pM)	27
4.5.3 Lokalisation Pankreas und Dünndarm	28
4.5.4 Resektionsrate	28
4.5.5 Tumordurchmesser	29
4.6 Langzeitergebnisse.....	30
4.6.1 Beobachtetes Überleben des gesamten Kollektivs	30

4.6.2 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht des Patienten	31
4.6.3 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primärtumors.....	32
4.6.4 Langzeitüberleben in Abhängigkeit der Fernmetastasierung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose eines GEP-NETs	34
4.6.5 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von der chirurgischen Behandlung des Primärtumors.....	35
4.6.6 Langzeitüberleben in Abhängigkeit vom Tumordurchmesser.....	36
4.6.7 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von der WHO Graduierung von 2000 und 2010	37
4.6.8 Langzeitüberleben in Abhängigkeit vom Ki-67 Proliferationsindex	42
4.6.9 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von den Mitosen	44
4.6.10 Langzeitüberleben in Abhängigkeit vom pathologischen Stadium nach dem TNM System der UICC (2010)	46
4.6.11 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von den Subgruppen NET G3 und NEC G3 bei neuroendokrinen G3 Tumoren.....	47
5. Diskussion.....	47
5.1 WHO Graduierung von 2010.....	49
5.1.1 Vergleich WHO Graduierung von 2010 mit der WHO Graduierung von 2000	49
5.1.2 Die Prognostische Wertigkeit der WHO Graduierung von 2010	49
5.1.3 Untersuchungen der Trennschärfe der WHO Graduierung von 2010 bei den Lokalisationen Pankreas und Dünndarm	50
5.1.4 Tumordurchmesser	51
5.1.5 Korrelation von klinisch-pathologischen Parametern mit der WHO Graduierung von 2010 (Alter, Geschlecht, Lymphknotenmetastasierung(N), Fernmetastasierung(M), Lokalisationsort, Resektionsrate(RO))	52
5.2 TNM Stadieneinteilung.....	52
5.3 Koexistenz von TNM UICC System und der WHO Graduierung von 2010	53
5.4 Die Heterogenität der neuroendokrinen G3 Tumoren.....	53
5.5 Schlussfolgerungen	55
6. Zusammenfassung	56
7. Literaturverzeichnis	59

8. Abkürzungsverzeichnis.....	62
9. Tabellenverzeichnis.....	63
10. Abbildungsverzeichnis.....	64
11. Eidesstattliche Versicherung	65
12. Danksagung	66

1. Einführung

Die neuroendokrinen Neoplasien (NEN) können aus allen neuroendokrinen Zellen des Körpers entstehen. Diese Tumorart zeigt große Variabilität bezüglich ihrer Biologie, des klinischen Verhaltens, dem Ansprechen auf Therapie und dem Überleben. Das Management der Patienten ist eine große Herausforderung für alle beteiligten Disziplinen (Basu et al. 2010, Modlin et al. 2008b, Pape et al. 2008b, Knösel et al. 2012).

Die gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Tumoren (GEP-NET) sind eine Subgruppe der NEN mit der Lokalisation im Gastrointestinaltrakt oder im Pankreas. Die Inzidenz aller GEP-NET wird mit 2,5-5 Fällen pro 100.000 Einwohner angegeben (Modlin et al. 2003). Wenn man die Abbildung 1 betrachtet, welche die Inzidenz der GEP-NET über einen Zeitraum von drei Jahrzehnten zeigt, so ist auffällig, dass in den vergangenen zehn Jahren die Inzidenz kontinuierlich gestiegen ist. Besonders deutlich ist das bei neuroendokrinen Dünndarmtumoren und Rektumtumoren von unter 0,5% auf 1,1% bzw. 1,2% (Tsikitis et al. 2012).

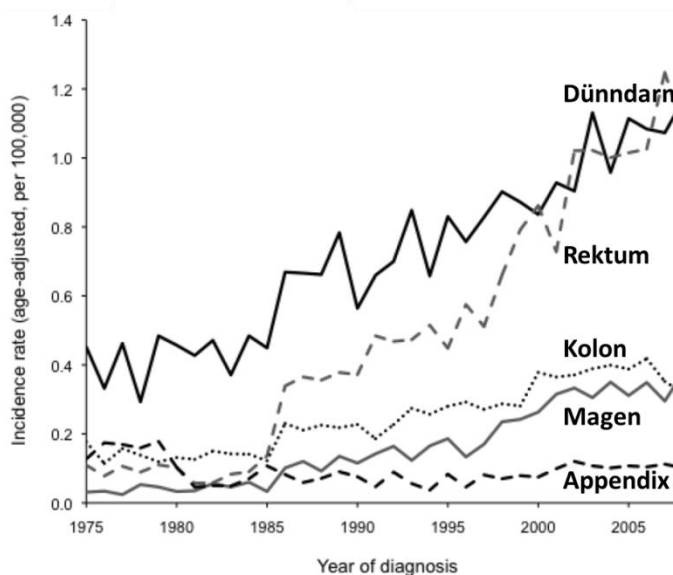


Abbildung 1: Inzidenz von GEP-NETS nimmt weltweit zu (Tsikitis et al. 2012)

Auch Modlin et al. hat in einer großangelegten Studie im nordamerikanischen Raum wissenschaftlich belegt, dass die Inzidenz in den vergangenen Jahren für gastroentero-pankreatische neuroendokrine Tumoren deutlich gestiegen ist und vermutlich weiter steigen wird (Abbildung 2) (Modlin et al. 2008a). Experten sehen die Ursache mitunter in der besseren Detektion von kleineren neuroendokrinen Neoplasien (NEN), da heutzutage häufiger endoskopische Untersuchungen durchgeführt werden (Hemminki und Li 2001).

Trotz der gestiegenen Inzidenz haben GEP-NET gerade mal einen Anteil von 0,46% an allen auftretenden malignen Erkrankungen (Modlin et al. 2002) und sind deswegen eine sehr seltene Erkrankung. Dies macht, insgesamt gesehen, sehr wenig Patientenfälle aus und ist mit ein Grund, warum GEP-NEN heutzutage dennoch eine unzureichend erforschte Entität darstellen. Auch die Heterogenität dieser Tumorart macht es sehr schwierig, allgemeingültige Aussagen über Verhalten und Prognose zu treffen.

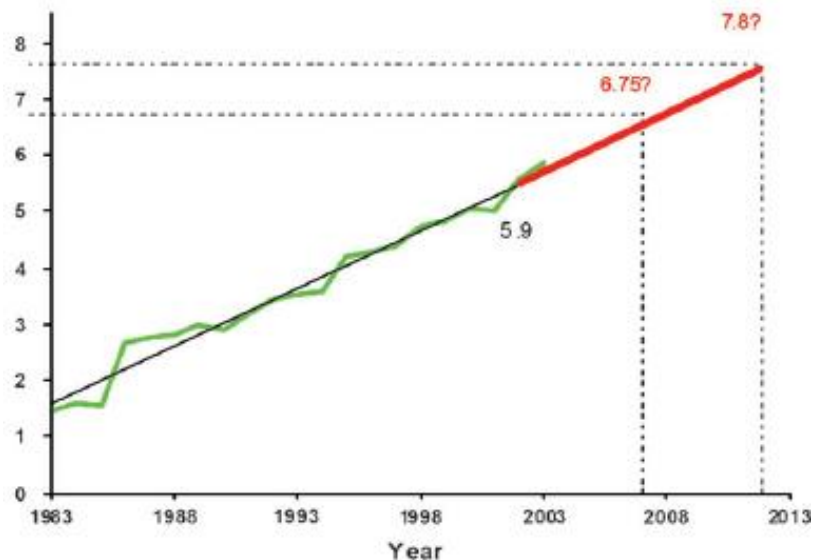


Abbildung 2: Ansteigende Inzidenz über den Zeitraum von 1973-2005 (Modlin et al. 2008a)

Eine weitere Herausforderung in der Forschung von GEP-NET ist, dass sich im Laufe des letzten Jahrhunderts die Nomenklatur dieser speziellen Tumoren immer wieder verändert hat. Dies hat auch dazu beigetragen, dass die Vergleichbarkeit von Studien aufgrund unterschiedlichster Klassifikationen und Namensgebungen nur eingeschränkt möglich war (Perren et al. 2009, Knösel et al. 2012). Die Forschung braucht deshalb als Basis validierte und einheitliche Klassifikationen mit genau definierten Begriffen.

Um die Entwicklung der verschiedenen Klassifikationen und den daraus resultierenden Auswirkungen auf das Verständnis der Tumorentität GEP-NET im Folgenden besser nachvollziehen zu können, ist ein kurzer Überblick mit den wichtigsten Eckdaten der GEP-NET Forschung hilfreich:

Bereits 1907 hat Siegfried Oberndorfer den Begriff „Karzinoid“ für „Geschwülstchen“ des Dünndarms eingeführt. Er hatte erkannt, dass es sich bei dieser Tumorausprägung um eine eigenständige Tumorgruppe handelt, die sich durch geringeres aggressives Verhalten von klassischen Magentumoren abgrenzt (Oberndorfer 1907).

1963 wurde von Williams und Sandler eine Klassifikation entwickelt, welche die GEP-NET nach deren jeweiligen Lokalisation einzuteilen versucht, entsprechend dem embryologischen Ursprungs in Vorderdarm, Mitteldarm und Hinterdarm (Williams und Sandler 1963b). Diese Einteilung wurde später verworfen, da sie nicht auf die unterschiedliche Biologie der einzelnen Tumoren einging (Arnold 1997).

1980 entwarf die WHO eine Klassifikation für neuroendokrine Neoplasien, die diese in Karzinoide, Mukokarzinoide und Karzinoid-Adenokarzinoid unterteilt. Des Weiteren unterschied sie Karzinoide in EC-Zell-Karzinoide, G-Zell Karzinoide und nicht näher spezifizierte Karzinoide. Diese Klassifikation beherbergte zwei Probleme: zum einen fasste sie ebenfalls nicht die komplette biologische Vielfalt dieser Tumorart und zum anderen wurde der Begriff „Karzinoid“ von Pathologen und Klinikärzten unterschiedlich definiert. Das trug zusätzlich zur Konfusion in der Namensgebung der GEP-NET bei (Klöppel 2003).

Mit der WHO Klassifikation von 2000 wollte man eine Vereinheitlichung in der Nomenklatur aller neuroendokriner, gastroentero-pankreatischen Tumoren erzielen, um dem vielfältigen biologischen Verhalten der NEN gerecht zu werden. Außerdem wollte man die Unstimmigkeit bezüglich des Begriffs „Karzinoid“ zwischen Pathologie und Klinik beseitigen. Es wurde genau definiert, dass der Begriff „Karzinoid“ nun als Synonym für gut differenzierte, neuroendokrine Tumoren und gut differenzierte, neuroendokrine Karzinome gebraucht wird und Tumoren mit benignen und niedrig malignem Verhalten beschreibt (Klöppel et al. 2004, Capella et al. 1995b).

Im Jahre 2006 hat die „European Neuroendocrine Tumor Society“ (ENETS) eine TNM-Klassifikation ausgearbeitet (Rindi et al. 2006, Rindi et al. 2007). Knapp drei Jahre später hat die „Union Internationale Contre le Cancer“ (UICC) eine TNM Stadieneinteilung für neuroendokrine Tumoren entworfen, die in weiten Teilen mit der TNM Klassifikation der ENETS übereinstimmt. Abweichungen gibt es nur in der T-Kategorie bei den Lokalisationen Appendix und Pankreas (Wittekind C. 2010). Im gleichen Jahr hat die WHO die Klassifikation von 2000 für GEP-NET modifiziert und die Bestimmung des Ki-67 Proliferationsindex als wichtiges Kriterium hinzugefügt. Man geht heutzutage davon aus, dass alle neuroendokrine Neoplasien potentiell maligne sind und sich nur in der Wahrscheinlichkeit der Metastasierung unterscheiden (Bosman et al. 2010). Eine Zusammenfassung über die historische Entwicklung der GEP-NET und der zugehörigen Klassifikationen zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1: Historische Entwicklung der GEP-NET und der zugehörigen Klassifikationen nach Arnold (Arnold 1997), modifiziert

1869	Langerhans	Beschreibung pankreatischer Inseln
1870	Heidenhain	Beschreibung endokriner Zellen der Mucosa des Darms
1888	Lubarsch	Beschreibung multipler kleiner Tumore im Ileum
1897	Kultschitzky	Beschreibung endokriner Zellen in der Mucosa des Darms
1906	Ciaccio	Entdeckung endokriner Zellen im Dünndarm
1907	Oberndorfer	Einführung des Begriffs „Carcinoid“
1938	Feyrter	Beschreibung des „Hellen Zellsystems“ im Darm
1954	(THORSON et al. 1954)	Einführung des Begriffs „Carcinoidsyndrom“
1963	(Williams und Sandler 1963a)	Klassifikation der Carcinoide entsprechend ihrem Ursprung: „Foregut“, „Midgut“, „Hindgut“
1969	(Pearse 1969)	Amine Precursor Uptake and Decarboxylation-System (APUD-System)
1980	WHO-Klassifikation	Carcinoide sind Tumoren des diffusen neuro-endokrinen Systems
1995	(Capella et al. 1995a)	Neue Klassifikation endokriner Tumoren
2000	WHO-Klassifikation	Neue Klassifikation GEP-NET
2006	1. ENETS Consensus Conf.	TNM-Systeme für Magen, proximalen Dünndarm und Pankreas
2007	2. ENETS Consensus Conf.	TNM-System für distalen Dünndarm, Appendix und Dickdarm
2008	(Pape et al. 2008a)	Nachweis der prognostischen Relevanz von ENETS-TNM-Stadien der Foregut-Region
2009	ENETS	Consensus Guidelines for the Standard of Care
2010	WHO-Klassifikation	Modifizierte WHO-Klassifikation durch die Annahme eines Malignitätspotentials aller NEN
2010	TNM-System	Übernahme und Modifikation des ENETS TNM Systems durch die UICC
2011	(Jann et al. 2011)	Nachweis der prognostischen Relevanz von ENETS-TNM-Stadien der Midgut- und Hindgut-Region

2. Zielsetzung der Arbeit

Eine gastroentero-pankreatische neuroendokrine Neoplasie stellt ein relativ seltenes Krankheitsbild dar. Unter anderem deshalb gibt es bisher noch wenige Studien, die sich mit der Anwendung der neuen WHO Graduierung von 2010 sowie der TNM Klassifikation der UICC von 2010 im gastrointestinalen und pankreatischen Bereich beschäftigen und die Validität beider Systeme analysieren.

Ziel dieser Arbeit ist es, eine „Re“-Klassifizierung von gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Tumoren vorzunehmen, um die Validität der neuen Klassifikationen zu überprüfen und um herauszufinden, inwieweit sich die WHO Graduierung von 2010 und die TNM Klassifikation der UICC von 2010 gegenüber bisher verwendeten älteren Klassifikationen verbessert haben.

Dazu sollte ein Tumorkollektiv aus gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Tumoren (GEP-NET) am Pathologischen Institut der LMU erstellt werden, welches als Basis für die vorliegende Dissertation und weitere künftige Studien dient.

Ein weiteres Ziel war die Ableitung und Analyse von Korrelationen zwischen verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern inklusive dem Überleben, um genauere Aussagen über diese Tumorentität treffen zu können. Darüber hinaus wurde noch die Heterogenität der G3 Tumoren an einer ausgewählten Patientengruppe untersucht. Die Forschungen wurden an einem Datenbestand des Tumorzentrums Münchens und des Pathologischen Institutes der LMU München mit dokumentierten Krankheitsverläufen aus den Jahren 1994 bis einschließlich 2014 durchgeführt.

3. Material und Methode

3.1. Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv setzt sich aus Daten des Tumorregisters München zusammen. Es wurden Informationen zu jenen Patienten angefordert, von denen eine neuroendokrine Neoplasie und eine Einlaufnummer des Pathologischen Institutes der LMU München dokumentiert worden waren. Alle vor dem Jahr 2000 als „gutartig“ diagnostizierten neuroendokrinen Tumoren fehlen in dieser Aufstellung, da früher die als „gutartig“ klassifizierten neuroendokrinen Neoplasien nicht in das Epidemiologischen-Register aufgenommen wurden und somit kein Abgleich erfolgen kann.

Die Anfrage erbrachte 2 Dateien, die im Folgenden als Datei 1 und Datei 2 bezeichnet werden und über die Patientennummern des Tumorregisters München der LMU und über das hausinterne Pathologie-System verknüpft waren. Datei 1 bestand aus 464 Patienten, von denen bei 306 Patienten eine maligne Erkrankung vorlag, bei 116 Patienten lagen zwei maligne Erkrankungen, bei 37 Patienten drei, bei einem Patient vier, bei drei Patienten fünf und bei einem Patient sechs vor. Alle 464 Patienten erfüllten damit die Voraussetzung, an mindestens einer malignen Erkrankung zu leiden und mindestens einen histologischen Befund aus dem Pathologischen Institut der LMU vorweisen zu können.

Datei 2 enthielt 681 Datensätze mit den zugehörigen Einlaufnummern des Pathologischen Instituts der LMU, passend zu 393 Patienten mit einer neuroendokrinen Neoplasie. Außerdem enthielt die Datei 2 488 verschiedene Proben zu eben genannten 393 Patienten. Der Abgleich von Datei 1 und Datei 2 ergab, dass zu 325 Patienten klinische Daten einer neuroendokrinen Neoplasie und mindestens ein histologischer Befund des Pathologischen Instituts der LMU einer neuroendokrinen Neoplasie mit Befunddatum zwischen 01.01.1994 und 30.09.2012, vorlagen. Nach Überprüfung aller Befunde zeigte sich, dass fünfzehn Patienten ausgeschlossen werden mussten, entweder aufgrund der Lokalisation des Primärtumors in Lunge oder Cervix oder aufgrund unzureichender Information.

Somit verblieben für die wissenschaftliche Auswertung 310 Patienten. Die histologischen Befunde wurden zu allen Patienten ausgewertet. Bei 262 Patienten (84%) wurde eine Resektion des Primärtumors durchgeführt und es lag somit ein ausführlicher histologischer Befund vor. Bei 48 Fällen (16%) wurde eine Biopsie entnommen.

In allen Fällen wurde eine neue Bewertung der Graduierung nach der WHO Klassifikation von 2010 vorgenommen (Bosman et al. 2010). Dazu war es notwendig, die Anzahl der Mitosen/10 HPF und/oder den Anteil Ki-67 exprimierenden Zellen zu bestimmen. Bei Fällen,

in denen aus dem pathohistologischen Befund keine genaueren Angaben herausgefiltert werden konnten und auch die Angabe zur Expression der Ki-67 gefärbten Zellen unvollständig war, hat man zusätzlich die entsprechenden Blöcke aus dem Archiv entnommen. Anschließend wurden entweder Großschnitte oder TMAs angefertigt um entsprechende immunhistochemische Färbungen, für diese Arbeit die Färbung des MIB1-Antigen durchführen zu können. Außerdem wurde erneut der Differenzierungsgrad bewertet und die Zahl der Mitosefiguren pro 10 Haupt Gesichtsfelder (HPF) eruiert, um die GEP-NETs gemäß der WHO Klassifikation 2010 einteilen zu können. Weiterhin wurde für alle 262 resezierten Primärtumoren die pathologische TNM Klassifikation der UICC von 2010 vorgenommen (Wittekind C. 2010). Dabei wurden alle klinischen Angaben anhand der vorliegenden Befunde geprüft und gegebenenfalls ergänzt oder korrigiert. Bei einigen Fällen wurden auch klinische Daten aus dem LAMP System hinzugezogen und ausgewertet. Somit war bei 258 eine vollständige TNM Stadieneinteilung möglich. Wenn die übersandten Verlaufsdaten nicht ausreichend genug waren zur Berechnung von Überlebensraten - in unserem Fall bei 120 Patienten - wurden Informationen in Briefform über den Lebend-Status des Patienten beim zuständigen Standesamt des bekannten Wohnortes eingeholt.

3.2 Verwendete Klassifikationen

3.2.1 „Alte“ Klassifikation nach Kriterien der WHO von 1980 und 2000

Neuroendokrine Neoplasien aus dem der Arbeit zugrundeliegendem Patientenkollektiv, die vor dem Jahre 2010 diagnostiziert wurden, wurden entsprechend dem „Status quo ante“ nach der WHO Klassifikation für neuroendokrine Tumoren von 1980 oder 2000 eingeteilt.

1980 wurde nur zwischen Karzinoid, Mukokarzinoid, der gemischten Form Karzinoid-Adenokarzinom und Pseudotumoröse Läsionen unterschieden (Tabelle 2) (Bosman et al. 2010).

Tabelle 2: WHO Klassifikationen für neuroendokrinen Neoplasien 1980, 2000, 2010
modifiziert nach Anlauf et al. 2011 und Anlauf et al. 2010 (Anlauf 2011, Anlauf et al. 2011)

WHO 1980	WHO 2000	WHO 2010
I. Karzinoid	1. Gut differenzierter endokriner Tumor	1. Neuroendokriner Tumor (NET) G1 (Karzinoid)
	2. Gut differenziertes endokrines Karzinom	2. NET G2 *
	3. Schlecht differenziertes endokrines Karzinom / kleinzelliges Karzinom	3. Neuroendokrines Karzinom (NEC) G3 – groß oder kleinzellig
II. Mukokarzinoid	4. Gemischtes exokrine-endokrines Karzinom	4. Gemischtes adeno-neuroendokrines Karzinom
III. gemischte Form Karzinoid-Adenokarzinom		
IV. Pseudotumoröse Läsionen	5. Tumorartige Läsionen	5. Hyperplastische präneoplastische Läsionen
G, proliferationsbasiertes Grading; NET, neuroendokriner Tumor; NEC, neuroendokrines Karzinom		
* Im seltenen Fall eines NET mit einem Ki67/MIB1 Proliferationsindex über 20% erhält dieser gut differenzierte Tumor den Grad „G3“		

Die WHO Klassifikation von 2000 unterteilt die GEP-NET in fünf Kategorien: gut-differenzierte endokrine Tumoren mit benignem Verhalten (WDET), gut differenzierte endokrine Karzinome mit niedrig malignem Verhalten (WDEC), schlecht differenzierte endokrine Karzinome mit hoch malignem Verhalten (PDEC), gemischte exokrin endokrine Karzinome und tumorartige Läsionen (MEEC) (Tabelle 2). Dabei wurde der Begriff „Karzinoid“ als Synonym gebraucht für gut differenzierter endokriner Tumor mit damals benignen Charakter (WDET) und gut differenziertes endokrines Karzinom mit semimaligen Charakter (WDEC) (Klöppel et al. 2004).

3.2.2 „Neue“ Klassifikation nach Kriterien der WHO von 2010

Die Kriterien der WHO Graduierung von 2010 unterscheiden sich von denen der WHO von 2000 insofern, dass alle neuroendokrinen Neoplasien (NEN) als potentiell maligne betrachtet werden, die sich nur in der Wahrscheinlichkeit der Metastasierung unterscheiden. Nunmehr werden anhand des Proliferationsgrades entweder nach dem Ki-67 Proliferationsindex oder der Mitosezahl folgende Kategorien unterschieden:

Gut differenzierte neuroendokrine Tumore (niedriggradig maligne) **NET G1**, gut differenzierte neuroendokrine Tumore (mittelgradig maligne) **NET G2** und schlecht differenzierte neuroendokrine Karzinome (hochgradig maligne) **NEC G3** (Tabelle 4).

Tabelle 3: WHO Graduierung für neuroendokrine Neoplasien von 2010: gleichlautend mit den, von der ENETS 2006/2007 vorgeschlagenen Graduierung (Bosman et al. 2010)

Grad	Mitosenzahl (10 HPF)*	Ki-67 Index (%) **
G1	<2	≤2
G2	2-20	3-20
G3	>20	>20

* 10 HPF (High Power Field) = 2mm², mindestens 40 Felder (bei 40x Vergrößerung) evaluiert in Arealen der größten mitotischen Dichte; ** MIB1 Antikörper; % von 2000 Tumorzellen in Arealen der größten Kernmarkierung.

Auch gemischte adeno-neuroendokrine Karzinome (MANEC) werden als G3 klassifiziert. Dabei handelt es sich um Karzinome, die sowohl eine drüsenbildende epitheliale Komponente als auch eine neuroendokrine Komponente besitzen. Um als MANEC definiert werden zu können, müssen 30% von jeder Komponente vorliegen (Bosman et al. 2010). Diese MANECs sind selten.

Wenn sich die Anzahl der Mitosen von der Prozentzahl des Ki-67 Proliferationsindex bei einem Patienten unterschieden hat, wurde der höhere Wert genommen, um die

gastrointestinale Neoplasie zu klassifizieren, entsprechend der Empfehlung des Kommentars zur Graduierung für gastrointestinale neuroendokrine Neoplasien der WHO von 2010 (Bosman et al. 2010).

Um von möglichst allen Patienten den Proliferationsindex Ki-67 zu bekommen, auf welchem die Graduierung neuroendokriner Tumoren basiert, wurden sofern möglich noch zusätzlich Tumorblöcke von Patienten, bei denen die MIB-1 Antigen Bestimmung fehlte, aus dem Archiv herausgesucht. Anschließend wurde von diesen Tumorblöcken Großschnitte und/oder ein Gewebe-Micro-Array (=tissue-micro-array, TMA) angefertigt (siehe 2.3 und 2.4.) und verschiedene immunhistochemische Färbungen vorgenommen.

3.2.3 TNM Stadieneinteilung gemäß der siebten Auflage 2010 (Wittekind 2005)

Vor 2010 war es nicht möglich, neuroendokrine Neoplasien (NEN) nach dem TNM-System zu klassifizieren. Bereits 2006 bzw. 2007 wurde von der „European Neuroendocrine Tumor Society“ (ENETS) ein Vorschlag zur TNM-Klassifikation für NEN ausgearbeitet (T-Kategorie, Tabelle 8) (Rindi et al. 2006, Rindi et al. 2007). Die 7. Auflage der TNM-Klassifikation der „Union international against Cancer“ (UICC) enthält erstmals auch eine ausgearbeitete TNM Stadieneinteilung für GEP-NET, die in weiten Teilen mit der TNM-Klassifikation der ENETS übereinstimmt. Die 2010 in deutsch veröffentlichte TNM-Klassifikation der UICC gilt allerdings lediglich für Karzinoide (gut differenzierte neuroendokrine Tumoren) und atypische Karzinoide (gut differenzierte Karzinome) des Gastrointestinaltrakts. Schlecht differenzierte neuroendokrine Karzinome werden nach den Kriterien der TNM-Klassifikation für Karzinome der jeweiligen Lokalisation klassifiziert (Wittekind C. 2010).

T - Primärtumor

Die TNM Einteilung der UICC unterscheidet sich von der ENETS TNM-Klassifikation nur in der T-Kategorie der Lokalisationen Appendix und Pankreas (Tabelle 4, Tabelle 5). Hauptunterschied der Klassifikation der UICC zur Klassifikation der ENETs bei der Lokalisation Appendix ist, dass die UICC die T1 Kategorie noch einmal unterteilt in T1a und T1b und somit Tumoren kleiner 2 cm in die T1 Kategorie einteilt. Bei den ENETS werden nur Tumoren < 1cm der T1 Kategorie zugeteilt (siehe Tabelle 5). Ein Hauptunterschied der Klassifikation bei der Lokalisation Pankreas ist, dass die UICC neuroendokrine Pankreastumoren nur jenseits des Pankreas als T3 kategorisiert. Bei den ENETs wird ein Pankreastumor größer 4 cm begrenzt auf den Pankreas noch der T3 Kategorie zugeordnet (siehe Tabelle 5).

Tabelle 4: T-Kategorie Appendix und Pankreas der ENETs TNM nach (Plöckinger 2007)

T-Kategorie der TNM Klassifikation der ENETS von 2007	
Appendix	
T1	Tumor kleiner gleich 1cm
T2	Tumor kleiner gleich 2 cm
T3	Tumor mehr als 2cm und/oder befällt ausgedehnt (>3mm) Subserosa/Mesoappendix
T4	Tumor perforiert Peritoneum oder andere Organe
Pankreas	
T1	Tumor kleiner gleich 2cm, begrenzt auf Pankreas
T2	Tumor mehr als 2 cm aber nicht mehr als 4 cm, begrenzt auf Pankreas
T3	Tumor mehr als 4 cm und begrenzt auf Pankreas oder befällt Duodenum oder Gallengang
T4	Tumor infiltriert benachbarte Organe (Magen, Milz, Kolon; Nebenniere) oder Truncus coeliacus oder A. mesenterica superior

Tabelle 5: T- Kategorie Appendix und Pankreas der UICC TNM (Wittekind C. 2010)

T-Kategorie der TNM Klassifikation der UICC von 2010		
Appendix		
T1	T1a	≤ 1 cm oder weniger in größter Ausdehnung
	T1b	Tumor zwischen 1-2 cm in größter Ausdehnung
T2	Tumor mehr als 2cm, aber nicht mehr als 4 cm in größter Ausdehnung oder mit Ausbreitung ins Zoecum	
T3	Tumor mehr als 4cm oder mit Ausbreitung ins Ileum	
T4	Tumor perforiert Peritoneum oder Infiltriert andere Nachbarorgane/- strukturen, z.B. Bauchwand oder Skelettmuskulatur	
Pankreas „Klassifikation gilt für Karzinome des exokrinen Pankreas und für neuroendokrine Tumoren eingeschlossen Karzinoide“		
T1	Tumor begrenzt auf Pankreas, 2cm oder weniger ins größter Ausdehnung	
T2	Tumor begrenzt auf Pankreas, mehr als 2cm ins größter Ausdehnung	
T3	Tumor breitet sich jenseits des Pankreas aus, jedoch ohne Infiltration des Truncus coeliacus oder der A. mesenterica superior	
T4	Tumor infiltriert Truncus coeliacus oder A. mesenterica superior	

N - Regionäre Lymphknoten

NX liegt vor, wenn keine regionären Lymphknoten herauspräpariert wurden und somit nicht beurteilt werden können. N0 liegt vor, wenn keine regionären Lymphknoten durch Metastasen befallen sind. N1 liegt vor, wenn regionäre Lymphknotenmetastasen nachweisbar sind. Hierbei wird auch eine Prüfung der Redundanz durchgeführt, indem sowohl die Anzahl der untersuchten Lymphknoten inklusive Lymphknotenmetastasen notiert werden, als auch nach der expliziten, zum Teil schon erfolgten pN-Kategorisierung in den pathohistologischen Befunden gesucht wird und beides miteinander abgeglichen wird.

M – Fernmetastasen

Gibt es keine Anzeichen für Fernmetastasen, so wird M0 klassifiziert. Liegen Fernmetastasen zum Beispiel der Leber, des Knochens etc. vor, so wird M1 eingetragen.

Einteilung in die Stadien I - IV

Die TNM-Klassifizierung erfolgt anhand von Resektionsmaterial des Primärtumors, weswegen in dieser Arbeit immer von einer pathologischen TNM Klassifikation gesprochen wird. Die einzelnen Kategorien der TNM-Gruppierungen wurden abhängig vom Ursprungsorgan einem entsprechenden Stadium I-IV zugeteilt (Tabelle 6).

Tabelle6:TNM- Stadieneinteilung nach (Wittekind C. 2010)

Magen, Dünndarm, Kolon, Rektum			
	T-Kategorie	N-Kategorie	M-Kategorie
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II A	T2	N0	M0
Stadium II B	T3	N0	M0
Stadium III A	T4	N0	M0
Stadium III B	Jedes T	N1	M0
Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1
Appendix			
	T-Kategorie	N-Kategorie	M-Kategorie
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II	T2,T3	N0	M0
Stadium III	T4/Jede T	N0/N1	M0
Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1
Pankreas			
	T-Kategorie	N-Kategorie	M-Kategorie
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I A	T1	N0	M0
Stadium I B	T2	N0	M0
Stadium II A	T3	N0	M0
Stadium II B	T1,T2,T3	N1	M0
Stadium III	T4	Jedes N	M0
Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1

3.3 TMA (= tissue-micro-array)

Von den vorhandenen Tumorblöcken wurden weiterhin TMAs hergestellt, um möglichst viele Informationen ergänzen zu können und TMAs für weitere Studien zur Verfügung zu stellen. Die Herstellung der TMA wurde folgendermaßen durchgeführt: Ein spezielles Stanzgerät hat aus formalinfixierten, paraffin-eingebetteten Gewebeschnitten einen im Querdurchmesser 0,6 mm großen Kreis aus dem Bereich des neuroendokrinen Tumors ausgeschnitten. Dieser Gewebeausschnitt wurde in einen „Empfängerblock“ eingesetzt, aus welchem zuvor ein identisch großer Gewebeausschnitt entfernt wurde. Zur Sicherheit wurden pro zu untersuchendem Tumor zwei Gewebeausschnitte desselben Tumors auf dem Empfängerblock nebeneinander drapiert. Außerdem wurden von den fertigen TMA-Paraffinblöcken Serienschnitte hergestellt, um sie auf Objektträger aufbringen und mit entsprechenden Markern (in diesem Fall Ki-67) anfärben zu können (Knösel et al. 2005, Knösel et al. 2006, Knösel et al. 2012). Auf diese Art und Weise wurden zwei TMAs angefertigt: TMA NET G1 und TMA NET G2 mit Informationen zu 160 Patienten.

3.4 Bestimmung des Ki-67 Proliferationsindex

Der MIB-1 Antikörper hat sich als monoklonaler, muriner Referenz-Antikörper für das Sichtbarmachen des Ki-67-Antigens in formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten bewährt. Dieses Antigen findet sich in allen aktiven Phasen des Zellzyklus (G_1 -, S-, G_2 - und M-Phase). Wenn die Zelle in den nicht proliferativen Zustand G_0 übergeht, wird dieses Protein nicht mehr exprimiert. Somit handelt es sich hier um einen Proliferationsindex, der vor allem in der Immunhistochemie bei Lymphomen, aber auch Mammakarzinomen, Adenokarzinomen der Prostata, Weichteilsarkomen und neuroendokrinen Tumoren verwendet wird. Bei neuroendokrinen Tumoren erfolgt die aktuelle Graduierung ausschließlich nach dem Ki-67 Index oder der Anzahl der Mitosen. Zusätzlich ist noch die Differenzierung der Tumorzellen wichtig.

Die Färbeprozedur wurde am Pathohistologischen Institut der LMU München, wie im Folgenden beschrieben mit Präparaten der Firma DakoDenmark A/S durchgeführt:

Als erstes wurde das Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 in einem Verdünnungsbereich von 1:75-1:150 verwendet. Es folgte eine 20 minütige hitzeinduzierte Epitopdemmaskierung mit Target Retrieval Solution. Darauf folgte eine ebenfalls 20 minütige Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur. Mit den Patientenproben sollten gleichzeitig Positiv- und Negativkontrollen mitgetestet werden. Diese benötigte ebenfalls eine Inkubationszeit von 20 Minuten bei Raumtemperatur. (Quelle: Firma Dako; Monoclonal Mouse Anti-Human Ki-67 Antigen). Die Auswertung der Ki-67 Färbung wurde in % angegeben.

3.5 Statistische Auswertung

Alle Patienten wurden nach der Entlassung aus dem Krankenhaus bis zu ihrem Tod bzw. bis zum 31.12.14 beobachtet. Die mediane Nachbeobachtungszeit nach der Diagnose einer neuroendokrinen Neoplasie betrug 45 Monate (Minimum 0 Monate – Maximal 211 Monate). Die univariate und multivariate statistische Analyse erfolgte mit dem Programm SPSS Version 19. Für Signifikanzberechnungen bei Verteilungen diente der Median-Test. Relative Häufigkeiten wurden – je nach Anzahl der Freiheitsgrade - in den Tabellen mit dem Chi-Quadrat-Test oder dem exakten Fisher-Test verglichen.

Überlebensraten wurden nach Kaplan-Meier berechnet und univariat mittels Log-Rank-Test verglichen (SPSS Version 19, Chicago, Illinois, USA).

4. Ergebnisse

4.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs

Das GEP-NET Gesamtkollektiv umfasst 310 Patientenfälle, davon sind 55% männlich (n=169) und 45% (n=141) weiblich. Das mediane Lebensalter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ist 60 Jahre, wobei die Spanne vom 16. bis zum 92. Lebensjahr reicht.

Die Lokalisation des Primärtumors ist bei 141 Patienten (45%) der Dünndarm, bei 87 Patienten (28%) der Pankreas, bei 25 Patienten (8%) die Appendix, bei 22 der Patienten der Magen/Ösophagus (7%) und bei 32 Patienten (11%) der Kolon bzw. das Rektum. In der Papilla Vateri und in Gallenblase/-wege bilden nur jeweils 2 Patienten eine neuroendokrine Neoplasie (NEN) aus (Tabelle 7).

Tabelle 7: Lokalisation der Primärtumoren

	Anzahl	%
Dünndarm	141	45%
Pankreas	87	28%
Appendix	25	8%
Magen/Ösophagus	22	7%
Kolon	21	7%
Rektum	12	4%
Papilla vateri	1	0%
Gallenblase/-wege	1	0%
Total	310	100%

Insgesamt werden zwei MANEC und vier MEN-1 Syndrom Fälle beobachtet. Bei 48 Patienten liegt eine Biopsie entweder aus dem Primärtumor, aus Metastasen des Primärtumors, aus metasynchron aufgetretenen Metastasen oder aus Manifestationen des Primärtumors vor. Bei insgesamt 262 Patienten wurde eine Resektion des Primärtumors durchgeführt. 132 Patienten haben zum Zeitpunkt der Erstdiagnose bereits Fernmetastasen. Bei 39% (101 Fälle) dieser Patienten mit Fernmetastasen wurde eine Resektion des Primärtumors durchgeführt (Tabelle 8).

Tabelle 8: Häufigkeit der Tumorresektion in Abhängigkeit von der Fernmetastasierung

M-Kategorie	Resektion				Total	
	nein		ja			
M0	17	35%	161	61%	178	57%
M1	31	65%	101	39%	132	43%
Gesamt	48	100%	262	100%	310	100%

4.2 Morphologie des Tumors, Tumordurchmesser, Ki-67 Proliferationsindex und Mitosezahl

Morphologie des Tumors

Am häufigsten kommt im vorliegenden Patientengut bei 264 Patienten (85,2%) der Karzinoidtumor vor, gefolgt vom Inselzellkarzinom, das bei 35 Patienten (11,3%) diagnostiziert worden ist. Bei 4 Patienten (1,3%) wird das großzellige, neuroendokrine Karzinom beschrieben. Der Anteil anderer morphologischer Ausprägungen wie zum Beispiel der Adenokarzinoidtumor oder das Glukagonom ist verschwindend gering (0,3%) (Tabelle 9).

Tabelle 9: Morphologie der Tumoren nach ICD-O (Fritz 2000)

Histologie	Anzahl	%
8240/3 Karzinoidtumor o.n.A.	264	85,2%
8150/3 Inselzellkarzinom C25.-	35	11,3%
8013/3 Großzelliges neuroendokrines Karzinom	4	1,3%
8245/3 Adenokarzinoidtumor	2	0,6%
8152/1 Glukagonom o.n.A. C25.-	1	0,3%
8152/3 Malignes Glukagonom C25.-	1	0,3%
8153/3 Malignes Gastrinom	1	0,3%
8156/3 Malignes Somatostatinom	1	0,3%
8243/3 Becherzellkarzinoid	1	0,3%
Insgesamt	310	100,0%

Tumordurchmesser

Bei 211 Patientenfällen kann der Tumordurchmesser ausgewertet werden. Bei 99 Patientenfällen gelingt dies nicht, da die Angaben im pathohistologischen Bericht ungenügend waren bzw. der Primärtumor nicht vollständig reseziert worden ist. Der mediane Tumordurchmesser der ausgewerteten Fälle betrug 19 mm. Der kleinste Tumor hatte einen Durchmesser von 1 mm und der größte Tumor von 160 mm (Abbildung 3).

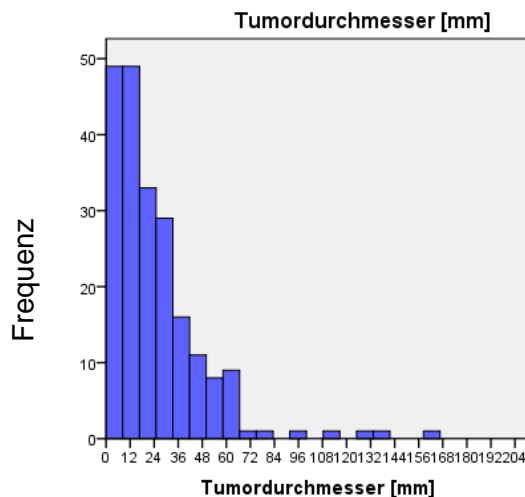


Abbildung 3: Verteilung der Tumordurchmesser von 211 Tumoren

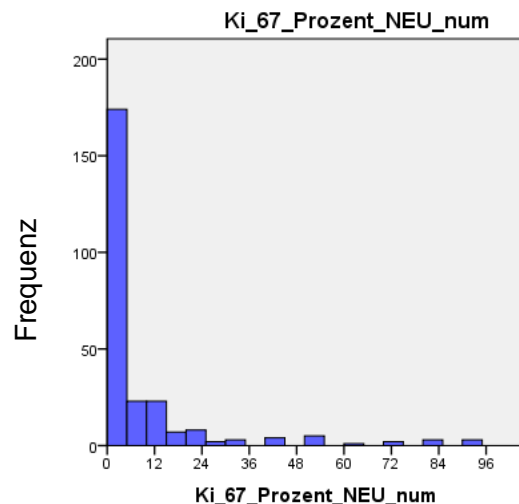


Abbildung 4: Verteilung der Ki-67 Werte von 258 Tumoren

Ki-67 Proliferationsindex

Der Proliferationsindex Ki-67 kann in 258 Patientenfällen aus dem pathohistologischen Bericht herausgefiltert werden. Bei 52 Fällen fehlen Angaben zur Ki-67 Färbung vollständig, da diese Patientenfälle vor 1996 diagnostiziert worden sind und damals die diagnostischen Standards die Ki-67 Färbung noch nicht enthielten. Zu diesen 52 Fällen enthielt das Archiv keine Tumorblöcke mehr und eine nachträgliche Färbung ist nicht möglich. Die mediane Ki-67 Auswertung beträgt 2%. Die Spanne reicht von 0% bis maximal 90% (Abbildung 4).

Mitoseanzahl

Die Mitoseanzahl kann bei 254 Patienten entweder aus dem pathohistologischen Befund und/oder bei der Großschnittbegutachtung herausgefunden werden. Bei 56 kann keine genaue Angabe zur Mitosezahl gemacht werden, teilweise aufgrund von fehlenden Großschnitten. Dabei reicht das Spektrum von Tumoren mit einer Mitose bis zu Tumoren mit 70 Mitosen pro 10HPF (Abbildung 5).

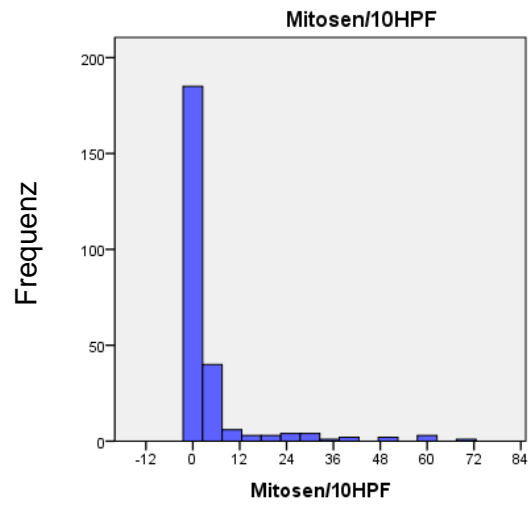


Abbildung 5: Verteilung der Mitosen pro 10 HPF bei 254 Tumoren

4.3 TNM und pathologisches Stadium nach Kriterien der 7. Auflage 2010 (Wittekind C. 2010)

Bei 262 (82%) von den 310 Patienten des zugrundeliegenden Gesamtkollektivs ist eine Resektion durchgeführt worden. In 258 Fällen kann eine pathologische TNM Stadieneinteilung erfolgen. Das heißt, nur in Fällen, in denen eine Resektion durchgeführt wurde, ist eine vollständige pathologische TNM-Klassifikation möglich. In 4 Fällen reichen die verfügbaren Informationen trotz Resektionsbericht für eine exakte Klassifikation in allen drei Kategorien (T, N, M) nicht aus. Schlecht differenzierte neuroendokrine Karzinome werden nicht nach den pathologischen TNM-Regeln für gastrointestinale-neuroendokrine Tumoren klassifiziert, sondern nach den TNM-Regeln der jeweiligen spezifischen Lokalisation des Karzinoms (Wittekind C. 2010).

pT- Kategorie des Primärtumors

Insgesamt kann in der pT-Kategorie Informationen zu 264 resezierten Patienten gewonnen werden. 67 Patienten (26%) sind pT1 zugeteilt worden, 48 Patienten (19%) pT2, 114 Patienten (42%) pT3 und 35 Patienten (13%) pT4. Tabelle 10 zeigt die Häufigkeit der pT-Kategorie in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primärtumors.

Tabelle 10: Häufigkeit der pT-Kategorie in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primärtumors

Lokalisation	pT1		pT2		pT3		pT4		Total	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%		
Magen/Ösophagus	6	50%	2	17%	3	25%	1	8%	12	100%
Dünndarm	19	15%	24	18%	65	50%	23	18%	131	100%
Kolon	0	0%	4	19%	10	48%	7	33%	21	100%
Rektum	6	75%	0	0%	1	13%	1	13%	8	100%
Appendix	20	80%	1	100%	3	0%	1	0%	25	100%
Papilla Vateri	0	0%	1	100%	0	0%	0	0%	1	100%
Pankreas	16	25%	15	23%	32	49%	2	3%	65	100%
Gallenblase/-wege	0	0%	1	100%	0	0%	0	0%	1	100%
Gesamt	67	25%	48	18%	114	43%	35	13%	264	100%

pN-Kategorie des Primärtumors

Des Weiteren sind bei 216 Patienten im Rahmen der Behandlung des Primärtumors regionäre Lymphknoten entfernt und untersucht worden. Bei 146 dieser Patienten (68%) sind Lymphknotenmetastasen des neuroendokrinen Tumors gefunden worden (pN1). Bei 70 (32%) Patienten waren alle untersuchten Lymphknoten tumorfrei (pN0).

M - Kategorie des Primärtumors

Etwas weniger als die Hälfte des Gesamtkollektivs (132 Patienten, 43%) haben zum Zeitpunkt der Erstdiagnose der neuroendokrinen Neoplasie bereits Fernmetastasen (M1) entwickelt. 178 Patienten (58%) haben keine Fernmetastasen entwickelt (M0).

Tabelle 11 zeigt, dass neuroendokrine Neoplasien des Rektums und der Appendix zu 75% bzw. 76%, also deutlich mehr als die Hälfte, im Stadium I zu finden sind. Bei den neuroendokrinen Neoplasien im Dünndarm sind die Hälfte, also 48% und im Kolon sogar bereits 57 % im Stadium IV (Tabelle 11).

Tabelle 11: Häufigkeit des pathologischen Stadiums in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primärtumors

Lokalisation	Stadium I		Stadium II		Stadium III		Stadium IV		Total	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%		
Magen/Ösophagus	4	40%	1	10%	2	20%	3	30%	10	100%
Dünndarm	9	7%	12	9%	46	36%	62	48%	129	100%
Kolon	0	0%	0	0%	9	43%	12	57%	21	100%
Rektum	6	75%	1	13%	0	0%	1	13%	8	100%
Appendix	19	76%	3	12%	0	0%	3	12%	25	100%
Papilla Vateri	0	0%	1	100%	0	0%	0	0%	1	100%
Pankreas	21	33%	23	37%	0	0%	19	30%	63	100%
Gallenblase	0	0%	1	100%	0	0%	0	0%	1	100%
Total	59	23%	42	16%	57	22%	100	39%	258	100%

4.4 Re-klassifizierung des Patientenkollektivs

4.4.1 Nach neuesten Kriterien der WHO 2010

Nach erneuter Durchsichtung aller Pathohistologischer Befunde und/oder Betrachtung der Großschnitte aus dem Archiv bezüglich der Ki-67 Färbung, der Anzahl der Mitosen pro 10 HPF und der morphologischen Differenzierung können alle GEP-NET gemäß der WHO Graduierung von 2010 eingeteilt werden. Demnach werden die neuroendokrinen Neoplasien des vorliegenden Patientenkollektivs in drei Gruppen unterteilt: NET G1 (186 Patienten, 60%), NET G2 (92 Patienten, 30%), NEC G3 (32 Patienten, 10%). Für alle 310 Patienten ist eine Bestimmung gemäß der aktuellen Graduierung möglich, im Gegensatz zur Graduierung von 2000, in der nur 213 Patienten zugeordnet werden konnten.

4.4.2 Im Vergleich WHO 2000 und WHO 2010

Die Gegenüberstellung beider Klassifikationen von 2000 und 2010 in Abbildung 6 zeigt, dass durch die „neue“ Graduierung basierend auf den Kriterien der WHO von 2010 nun 185 anstatt 149 Patienten der ersten Kategorie NET G1 zugeteilt werden können. Dabei ist auffällig, dass 39 Patienten von WDET zu NET G2 höher gestuft wurden. Erwähnenswert ist außerdem, dass nur 3 Patienten von PDEC zu NET G2 zurückgestuft wurden. Die Ursache dafür ist wahrscheinlich, dass früher die Begriffe noch nicht so exakt definiert waren und oft verallgemeinernd von einem „neuroendokrinen Karzinom“ gesprochen wurde.

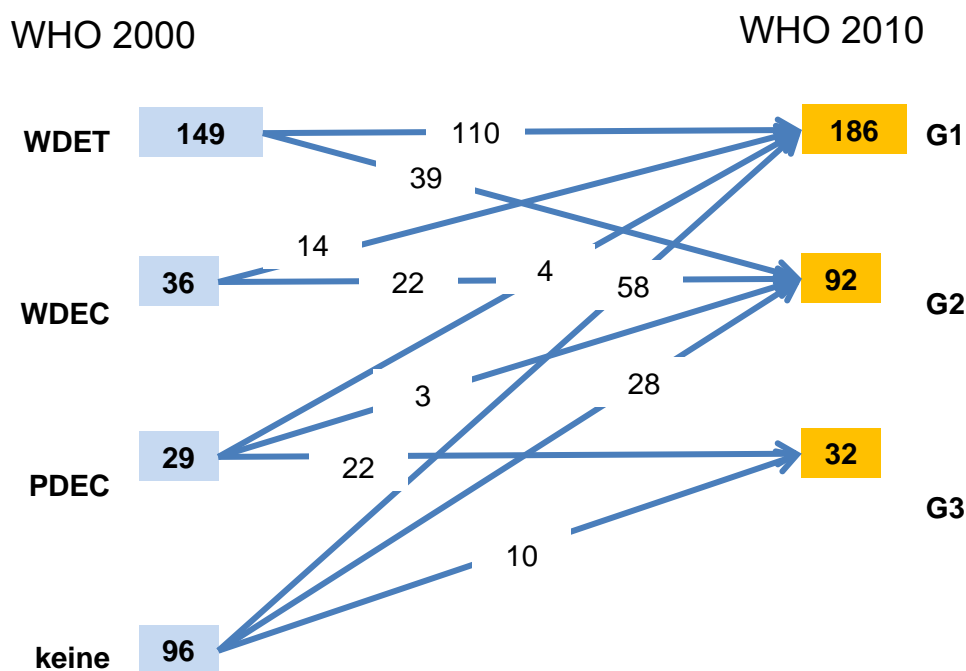


Abbildung 6: Unterschiede WHO Graduierung von 2000 zu 2010

4.5 Korrelation von klinisch-pathologischen Parametern mit der Graduierung der WHO 2010

4.5.1 Alter, Geschlecht und Lymphknotenmetastasierung (pN)

Der Vergleich des Lebensalters der Patienten mit der WHO Graduierung von 2010 ergibt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen < 60 Jahre und > 60 Jahre. Auch die Korrelation von Geschlecht (weiblich/männlich) oder der pN-Kategorie mit der WHO Graduierung von 2010 ergibt keinen signifikanten Unterschied in den jeweiligen Gruppen.

4.5.2 Fernmetastasierung (pM)

Einen signifikanten Unterschied von $p < 0,01$ gab es zwischen Fernmetastasierung und der WHO Graduierung von 2010. Die Anzahl der Tumore mit Fernmetastasierung (M1) ist in der Kategorie NEC G3 doppelt so hoch (14,4%), wie die Anzahl der Karzinome ohne Fernmetastasierung (M0) (7,3%) (Tabelle 12).

Tabelle 12: Korrelation der WHO Graduierung von 2010 mit der M-Kategorie des Primärtumors

Fernmetastasierung		WHO Graduierung von 2010			Total
		G1	G2	G3	
M 0	Anzahl	126	39	13	178
	%	70,8%	21,9%	7,3%	100,0%
M 1	Anzahl	60	53	19	132
	%	45,5%	40,2%	14,4%	100,0%
Gesamt	Anzahl	186	92	32	310
	%	60,0%	29,7%	10,3%	100,0%

4.5.3 Lokalisation Pankreas und Dünndarm

Die Korrelation der Lokalisation des neuroendokrinen Tumors mit der WHO Graduierung von 2010 konnte nur bei Dünndarm und bei Pankreas geprüft werden. Bei den anderen Lokalisationen haben die Erwartungswerte aufgrund der geringen Fallzahlen keine statistisch belastbaren Tests zugelassen. Der Test ergibt einen signifikanten Unterschied zwischen Dünndarm und Pankreas von $p < 0,001$. So liegen hoch maligne neuroendokrine Karzinome (NEC G3) im Pankreas fünfmal so häufig vor wie im Dünndarm (Tabelle 13).

Tabelle 13: Korrelation zwischen der WHO Graduierung von 2010 und der Lokalisation des Primärtumors bei Dünndarm- und Pankreasläsionen

Lokalisation		WHO Graduierung von 2010			Total
		G1	G2	G3	
Dünndarm	Anzahl	96	41	4	141
	%	68,1%	29,1%	2,8%	100,0%
Pankreas	Anzahl	38	36	13	87
	%	43,7%	41,4%	14,9%	100,0%
Gesamt	Anzahl	134	77	17	228
	%	58,8%	33,8%	7,5%	100,0%

4.5.4 Resektionsrate

Der Vergleich Resektionsrate mit der WHO Graduierung von 2010 ist statistisch signifikant ($p=0,003$). Es zeigte sich, dass ein Tumor, klassifiziert als NET G1, sechsmal häufiger (63,7%) reseziert wurde, als ein NEC G3 Karzinom, bei dem in nur mehr 8,4% der Fälle eine vollständige Resektion des Primärtumors durchgeführt worden ist (Tabelle 14).

Tabelle 14: Korrelation zwischen WHO Graduierung von 2010 und Resektionsrate des Primärtumors

Resektion		WHO Graduierung von 2010			Total
		G1	G2	G3	
Nein	Anzahl	19	19	10	48
	%	39,6%	39,6%	20,8%	100,0%
ja	Anzahl	167	73	22	262
	%	63,7%	27,9%	8,4%	100,0%
Gesamt	Anzahl	186	92	32	310
	%	60,0%	29,7%	10,3%	100,0%

4.5.5 Tumordurchmesser

Die Korrelation des Tumordurchmessers mit der WHO Graduierung von 2010 ist ebenfalls statistisch signifikant ($p=0,002$). Der Tumordurchmesser in der Kategorie NEC G3 ist fünfmal häufiger > 2 cm (Tabelle 15).

Tabelle 15: Korrelation WHO Graduierung von 2010 mit dem Durchmesser des Primärtumors

Tumordurchmesser		WHO Graduierung von 2010			Total
		G1	G2	G3	
< 2cm	Anzahl	81	23	2	106
	%	76,4%	21,7%	1,9%	100,0%
≥ 2 cm	Anzahl	58	36	11	105
	%	55,2%	34,3%	10,5%	100,0%
Gesamt	Anzahl	139	59	13	211
	%	65,9%	28,0%	6,2%	100,0%

4.6 Langzeitergebnisse

4.6.1 Beobachtetes Überleben des gesamten Kollektivs

Die mediane Beobachtungszeit nach der Diagnose eines gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Tumors beträgt 45 Monate (Minimum 0 Monate – Maximal 211 Monate). In den ersten 5 Jahren nach Diagnosestellung haben 217 Patienten überlebt und 93 Patienten sind verstorben (30%). Zwischen 5 und 10 Jahren nach Diagnosestellung sind weitere 24 Patienten verstorben. Somit sind nach der Diagnosestellung insgesamt 117 von 310 Patienten im beobachteten Zeitraum verstorben und 193 von 310 Patienten haben überlebt (Abbildung 7).

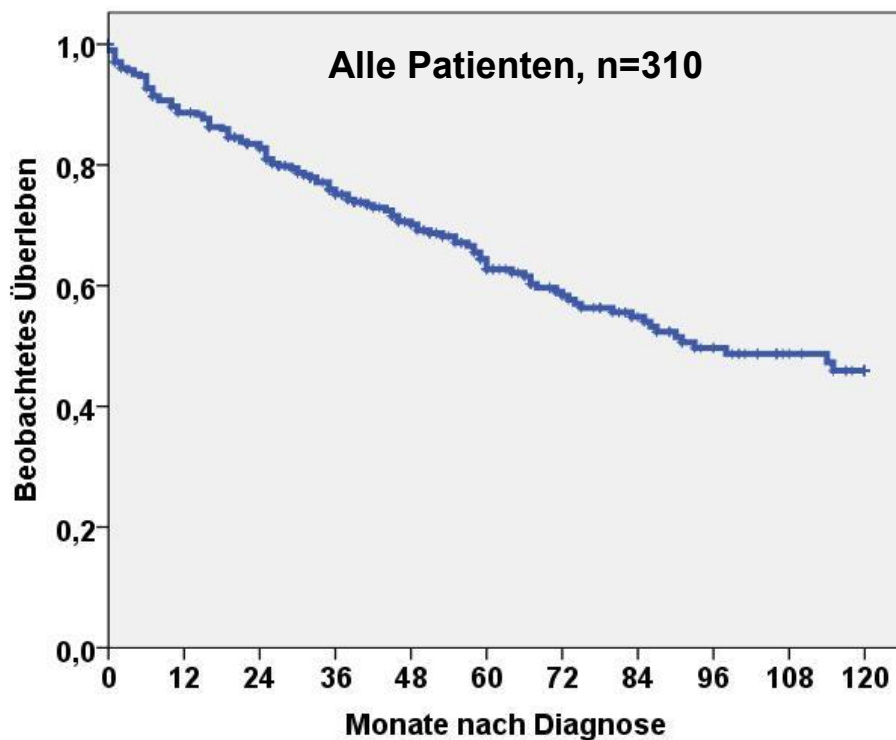


Abbildung 7: 10-Jahres-Überlebensrate aller Patienten (n=310)

Die mediane Überlebenszeit aller Patienten beträgt 93 Monate. Die beobachtete 5-Jahres-Überlebensrate aller Patienten beträgt 88%, die 10-Jahres-Überlebensrate 46%.

4.6.2 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht des Patienten

151 Patienten sind bei der Diagnosestellung jünger als 60 Jahre, 159 Patienten sind älter. Die mediane Überlebenszeit der jüngeren Gruppe ist länger als 10 Jahre, die der Älteren 6 Jahre und 11 Monate.

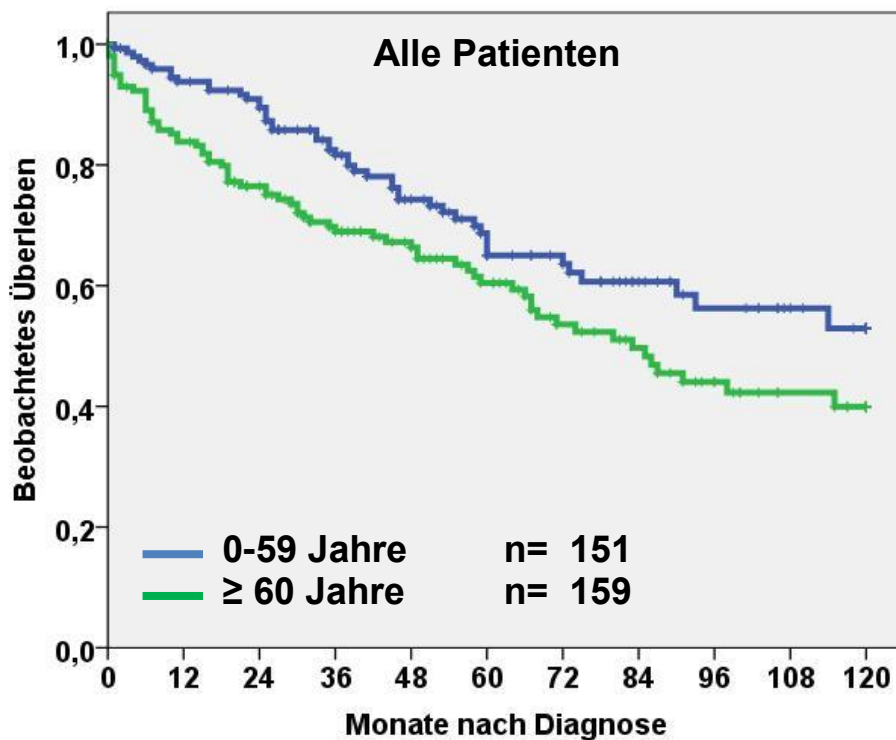


Abbildung 8: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten in Abhängigkeit vom Alter bei der Diagnosestellung

Die 5-Jahres-Überlebensraten der beiden Gruppen betragen für die Gruppe jünger als 60 Jahre 65% und für die Gruppe älter als 60 Jahre 61%, die 10-Jahres-Überlebensraten 53% bzw. 40%. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant ($p=0,022$) (Abbildung 8).

Das Langzeitüberleben in Abhängigkeit vom Geschlecht ist am Gesamtkollektiv ausgewertet worden und umfasst 171 Männer und 139 Frauen. Die mediane Überlebenszeit der Männer beträgt 91 Monate, die der Frauen ist länger als 10 Jahre. Die 5-Jahres-Überlebensraten der Männer bzw. Frauen betragen 63% bzw. 62%. Dieser Unterschied ist nicht statistisch signifikant. Die 10-Jahres-Überlebensraten betragen 41% bzw. 52%.

4.6.3 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primärtumors

a) Dünndarm und Pankreas

Die Gesamtgruppe umfasst 141 neuroendokrine Tumore des Dünndarms und 87 Tumore des Pankreas. Die mediane Überlebenszeit der Patienten mit einem Dünndarmtumor beträgt mehr als 10 Jahre. Patienten mit einem Pankreastumor haben eine mediane Überlebenszeit von 75 Monaten.

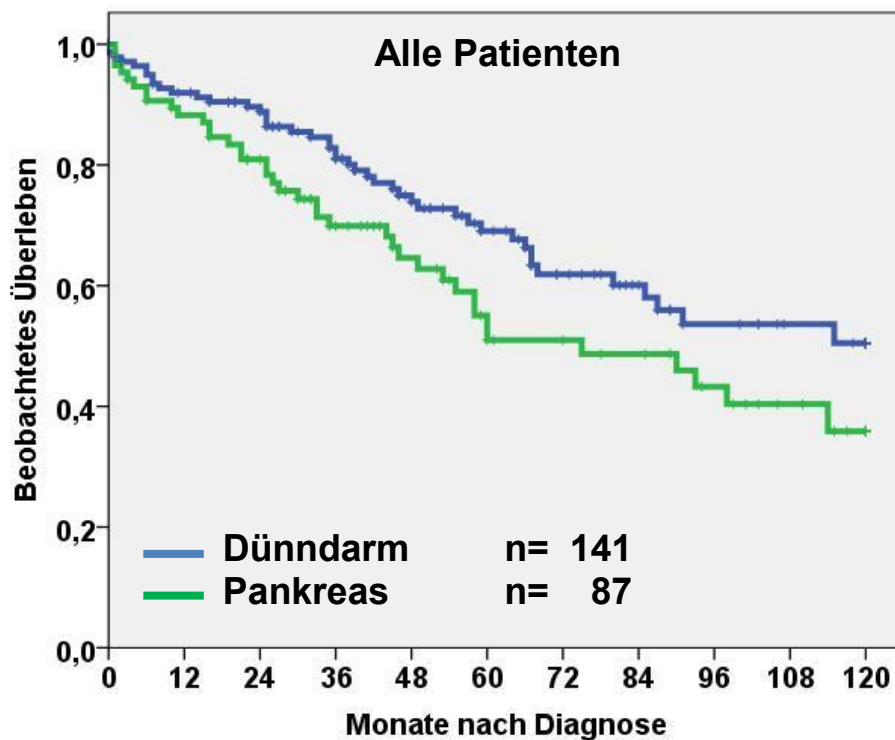


Abbildung 9: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der Lokalisation in Pankreas und Dünndarm

Die 5- bzw. 10-Jahres-Überlebensraten für Patienten mit einem Dünndarmtumor sind 69% und 51%, für Patienten mit einem Pankreastumor sind die Werte deutlich geringer, nämlich 55% und 36%. Hierbei ergibt sich ein Trend zu statistisch signifikant ($p=0,05$) (Abbildung 9).

b) Kolon, Rektum und Appendix

Diese Auswahl setzt sich aus neuroendokrine Tumoren des Kolons (21 Fälle), des Rektums (12 Fälle) und der Appendix (25 Fälle) zusammen. Die mediane Überlebenszeit mit einem Kolontumor beträgt 72 Monate, mit einem Rektum bzw. Appendixtumor jeweils mehr als 10 Jahre.

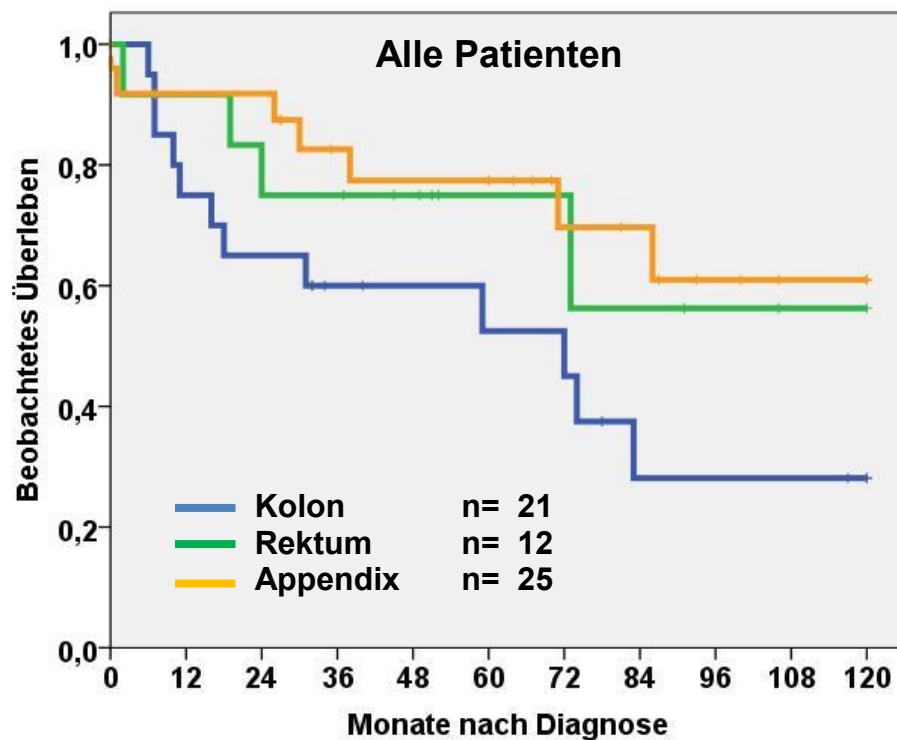


Abbildung 10: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der Lokalisation in Kolon, Rektum und Appendix

Die 5- bzw. 10-Jahres-Überlebensraten für Patienten mit einem Kolontumor sind 53% und 28%. Für Patienten mit einem Rektumtumor sind die Werte 75% und 56%. Für Patienten mit einem Appendixtumor sind die Werte ähnlich dem von Patienten mit einem Rektumtumor 77% und 61%. Dabei gibt es nur zwischen Kolon- und Appendixtumoren einen Trend zur statistischen Signifikanz ($p=0,05$). Die anderen Gruppen sind nicht signifikant verschieden (Abbildung 10).

4.6.4 Langzeitüberleben in Abhängigkeit der Fernmetastasierung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose eines GEP-NETs

Die Gesamtgruppe umfasst 178 Patienten ohne Fernmetastasen, entsprechend M0 und 132 Patienten mit Fernmetastasen, entsprechend M1. Die mediane Überlebenszeit der M0 Gruppe beträgt mehr als 10 Jahre, die der M1 Gruppe ist mit 58 Monate deutlich kürzer.

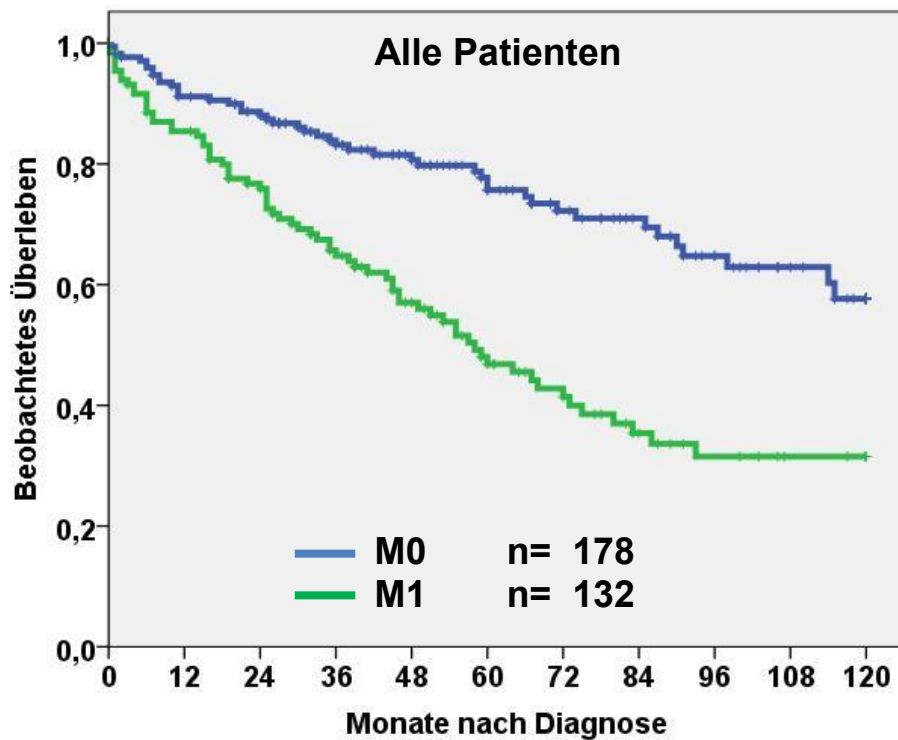


Abbildung 11: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten in Abhängigkeit von der Fernmetastasierung bei der Diagnosestellung

Die 5- bzw. 10-Jahres-Überlebensrate der M0 Gruppe beträgt 78% und 58%. Die entsprechenden Überlebensraten für die M1 Gruppe sind 47% und 32%. Dieser Unterschied ist hoch statistisch signifikant ($p < 0,001$) (Abbildung 11).

4.6.5 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von der chirurgischen Behandlung des Primärtumors

Unser Patientenkollektiv setzt sich aus 262 resezierten und 48 nicht-resezierten Patienten zusammen. Die mediane Überlebenszeit der resezierten Patienten beträgt 114 Monate, die der nicht resezierten ist kürzer und beträgt nur 55 Monate.

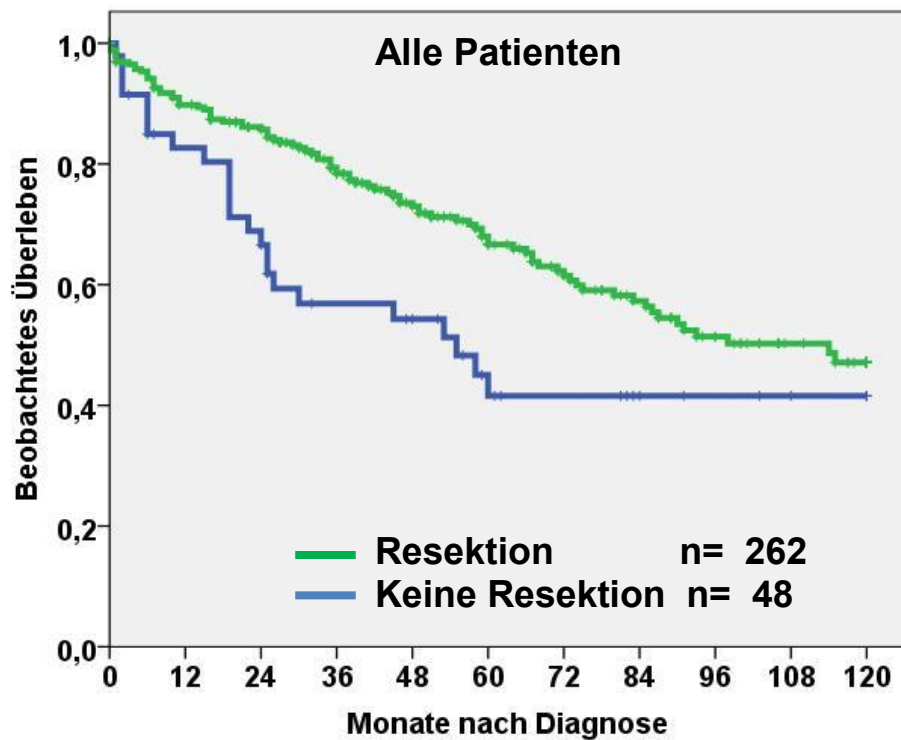


Abbildung 12: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der chirurgischen Behandlung des Primärtumors

Die 5-Jahres-Überlebensraten der resezierten bzw. nicht-resezierten Patienten betragen 67% bzw. 42%, die 10-Jahres-Überlebensraten 47% bzw. 42%. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant ($p=0,012$) (Abbildung 12).

4.6.6 Langzeitüberleben in Abhängigkeit vom Tumordurchmesser

Von 211 Patienten kann der Tumordurchmesser ermittelt werden, davon sind 106 Tumoren < 2 cm und 105 Tumoren ≥ 2 cm. Die mediane Überlebenszeit der ersten Gruppe (< 2 cm) beträgt mehr als 10 Jahre, die der zweiten Gruppe (≥ 2 cm) 5 Jahre und 8 Monate.

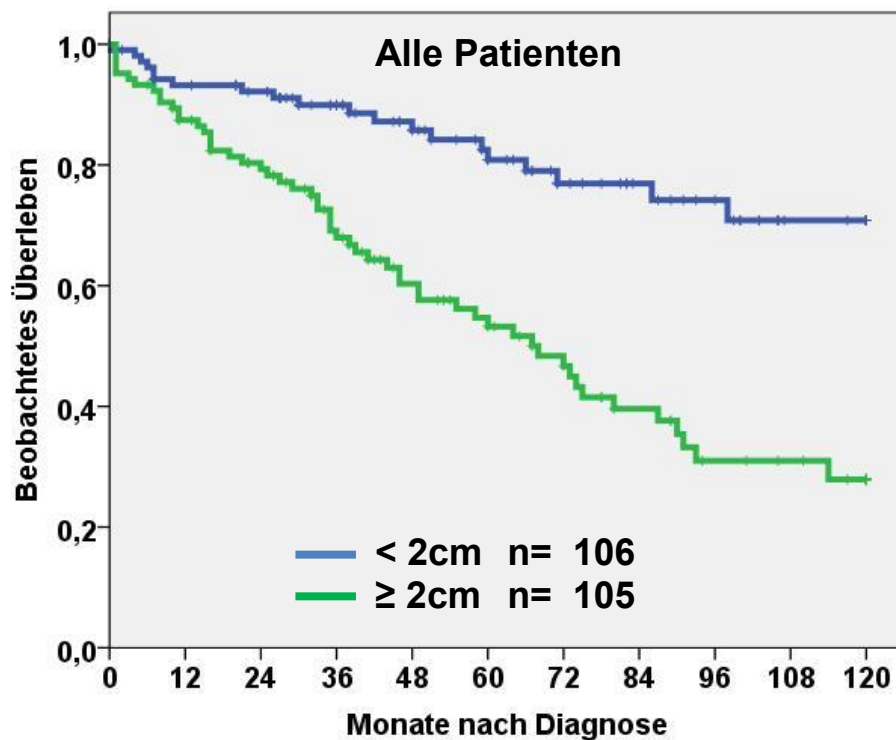


Abbildung 13: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit vom Tumordurchmesser

Die 5-Jahres-Überlebensraten der ersten Gruppe (< 2 cm) bzw. der zweiten Gruppe (≥ 2 cm) betragen 81% bzw. 53%, die 10-Jahres-Überlebensraten für die erste und zweite Gruppe jeweils 71% bzw. 28%. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant ($p=0,001$) (Abbildung 13).

4.6.7 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von der WHO Graduierung von 2000 und 2010

a) WHO Graduierung von 2000

Die Gesamtgruppe setzt sich aus vier Gruppen zusammen, wovon die erste, genannt gut differenzierte endokrine Tumoren mit benignem Verhalten (WDET), 149 Patienten beinhaltet, die zweite, genannt gut differenzierte endokrine Karzinome mit niedrig malignem Verhalten (WDEC) 36 Patienten beinhaltet, die dritte Gruppe, genannt schlecht differenzierte endokrine Karzinome mit hoch malignem Verhalten (PDEC), 29 Patienten beinhaltet und die vierte Gruppe, genannt GX = keine Einteilung möglich, 96 Patienten beinhaltet. Die mediane Überlebenszeit der Gruppen WDET, WDEC, PDEC und GX beträgt jeweils > 10 Jahre, 86 Monate, 11 Monate und 115 Monate.

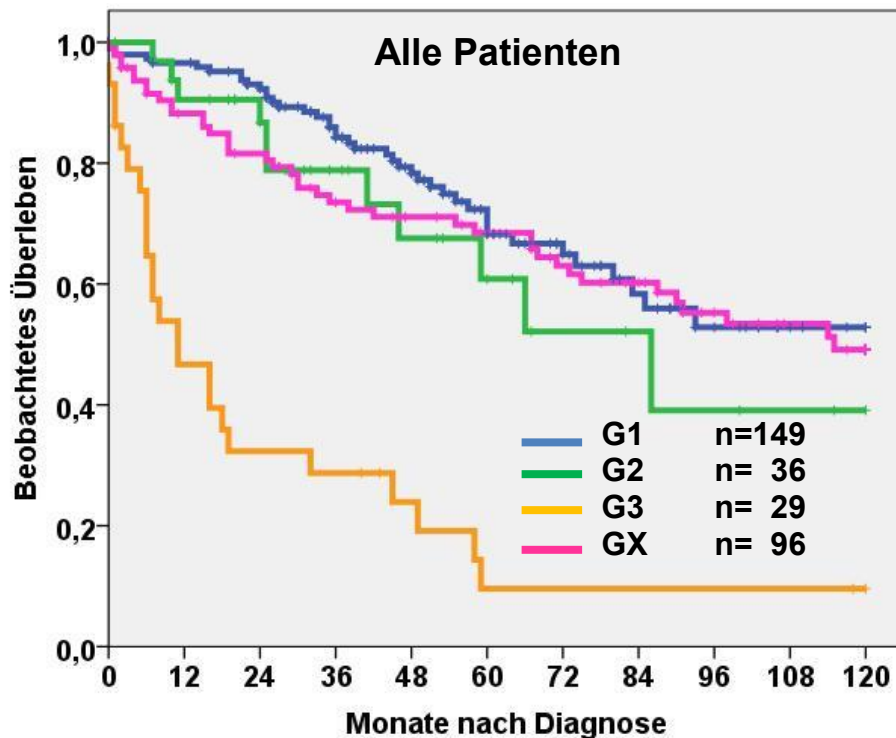


Abbildung 14: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten in Abhängigkeit von der alten Graduierung der WHO 2000

Die 5-Jahres-Überlebensraten der Gruppen WDET, WDEC, PDEC, GX betragen 68%, 61%, 10% und 69%. Die 10-Jahres-Überlebensraten betragen analog 53%, 39%, 10% und 49%. Dabei sind die ersten beiden Gruppe WDET (G1) zu WDEC (G2) nicht statistisch signifikant. Die anderen Gruppen WDET zu PDEC und WDEC zu PDEC sind paarweise statistisch signifikant (Abbildung 14).

b) WHO Graduierung von 2010

Das Gesamtkollektiv setzt sich aus drei Gruppen zusammen. Die erste Gruppe NET G1 umfasst 186 Patienten. Die zweite Gruppe NET G2 beinhaltet 92 Patienten und die dritte Gruppe NEC G3 umfasst 32 Patienten. Die mediane Überlebenszeit der Gruppen NET G1, NET G2, NEC G3 beträgt jeweils > 10 Jahre, 86 Monate und 8 Monate.

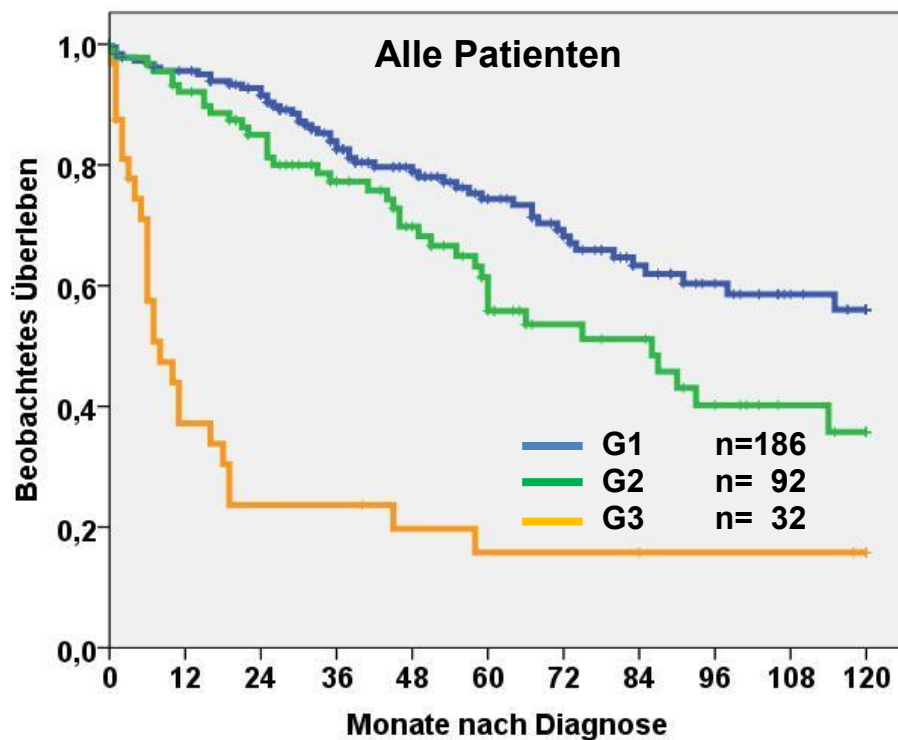


Abbildung 15: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der neuen WHO Graduierung von 2010

Die 5-Jahres-Überlebensraten der Gruppen NET G1, NET G2 und NEC G3 betragen 74%, 56% und 16%. Die 10-Jahres-Überlebensraten betragen analog 56%, 36% und 16%. Dabei sind alle Gruppen paarweise statistisch signifikant (Abbildung 15).

c) Speziell ausgewählte Untergruppen in Abhängigkeit von der WHO Graduierung von 2010

Bei der ersten speziell untersuchten Untergruppe unseres Patientenkollektivs handelt es sich um Patienten, bei denen die Resektion vollständig in sano (=R0) erfolgt worden ist. Dies ist bei 166 Patienten der Fall. Die erste Gruppe bilden die R0 resezierte mit einem NET G1 (111 Patientenfälle), die zweite Gruppe besteht aus R0 resezierten mit einem NET G2 (45 Fälle) und die dritte Gruppe wird von R0 resezierten mit einem NEC G3 gebildet (10 Fälle). Die mediane Überlebenszeit der Gruppen 1-3 ist mehr als 120 Monate, 93 Monate und 6 Monate.

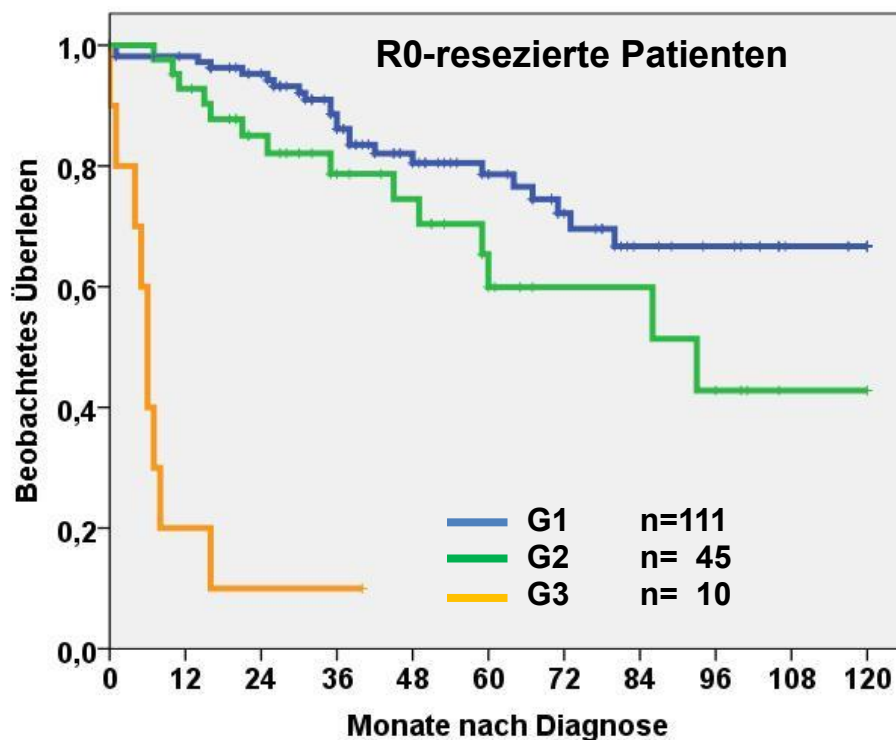


Abbildung 16: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der Resektion (R0) untersucht am Patientenkollektiv der Graduierung von 2010

Die 5-Jahres-Überlebensraten von Gruppe 1-3 betragen jeweils 79%, 60% und weniger als 5 Jahres. Die 10- Jahres-Überlebensraten betragen analog 67%, 43% und wieder weniger als 5 Jahre. Auch hier sieht man an den Kurvenverläufen, dass die Gruppen paarweise statistisch signifikant sind (Abbildung 16). Somit hat die Resektion im Gesunden (R0) abhängig von der Graduierung auch eine Aussagekraft bezüglich der Prognose der neuroendokrinen Neoplasie zu besitzen.

Bei Lokalisationen mit ausreichender Fallzahl (Dünndarm/Pankreas) wurden ebenfalls Überlebenskurven abhängig von der neuen Graduierung untersucht.

Neuroendokrine Neoplasien des Pankreas sind eine weitere im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Untergruppe des GEP-NET Tumorkollektivs. Diese Gruppe umfasst 72 Fälle. Die erste Gruppe bilden die NEN im Pankreas, klassifiziert gemäß der WHO 2010 als NET G1 (32 Patientenfälle), die zweite Gruppe NET G2 besteht aus 32 Tumoren im Pankreas und die dritte Gruppe NEC G3 besteht aus 8 Karzinomen im Pankreas. Die mediane Überlebenszeit der Gruppen NET G1, NET G2 und NEC G3 beträgt jeweils mehr als 10 Jahre für NET G1, 5 Jahre für NET G2 und 6 Monate für NEC G3.

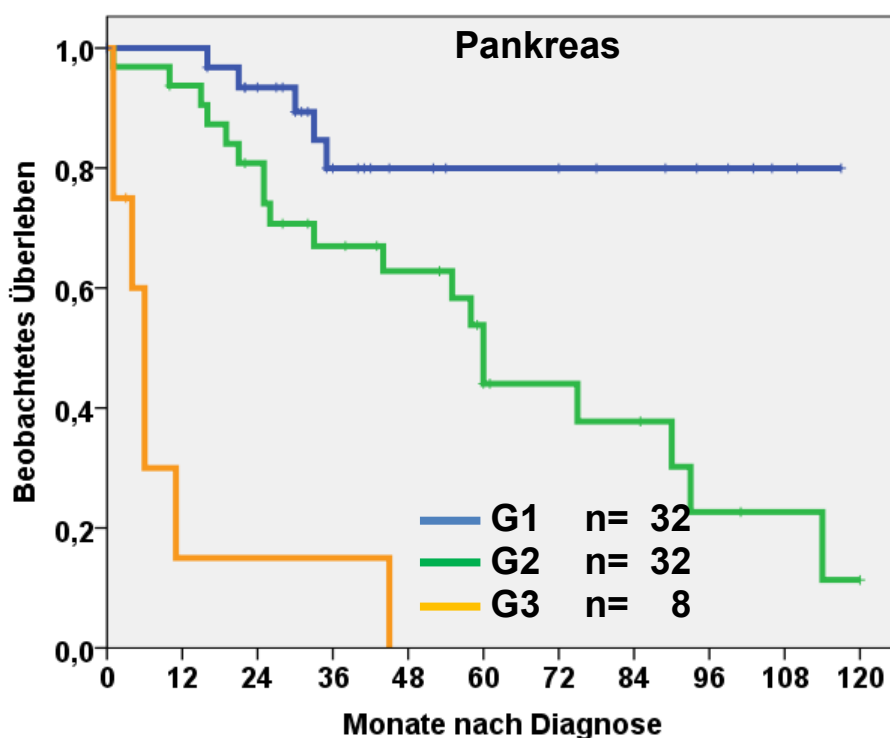


Abbildung 17: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der Graduierung untersucht am Patientenkollektiv mit Primärlokalisierung Pankreas

Die 5-Jahres-Überlebensraten von Gruppe NET G1, NET G2 und NEC G3 betragen jeweils 80%, 45% und weniger als 5 Jahre. Die 10-Jahres-Überlebensraten betragen dementsprechend 80%, 18% und weniger als 5 Jahre. Die Überlebenskurven für die Lokalisation Pankreas abhängig von der Graduierung, werden ebenfalls paarweise signifikant getrennt (Abbildung 17).

Eine weitere gesondert untersuchte Untergruppe sind gastrointestinale neuroendokrine Neoplasien mit Primärlokalisierung im Dünndarm. Diese setzen sich aus 122 Patientenfällen zusammen, von denen 81 als NET G1 klassifiziert worden sind (Graduierung der WHO 2010), 38 Fälle als NET G2 und 3 Fälle als NEC G3.

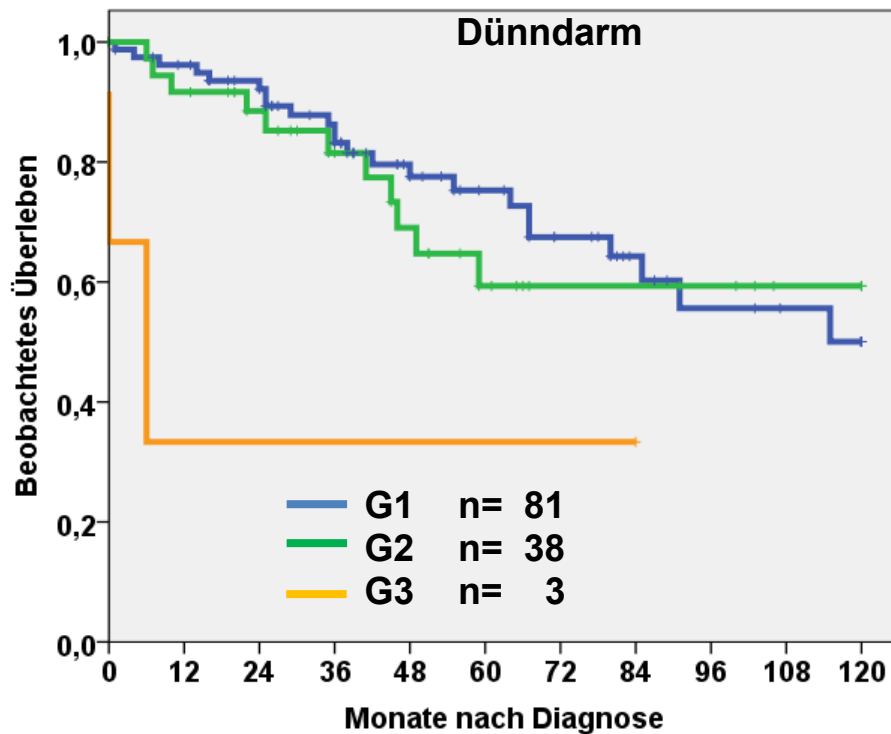


Abbildung 18: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der Graduierung untersucht am Patientenkollektiv mit Primärtumorlokalisierung im Dünndarm

Die 5-Jahres-Überlebensraten der untersuchten Gruppen NET G1, NET G2, NEC G3 betragen jeweils 78%, 60% und 35%. Die 10 Jahres-Überlebensraten betragen analog 57%, 60% und weniger als 10 Jahre. Dabei werden nur die Gruppen G1 zu G3 und G2 zu G3 statistisch signifikant getrennt. G1 und G2 werden nicht statistisch signifikant getrennt (Abbildung 18).

4.6.8 Langzeitüberleben in Abhängigkeit vom Ki-67 Proliferationsindex

a) Einteilung in drei Gruppen

Die folgende Auswertung teilt die Fälle mit einem vorhandenen Ki-67 Proliferationsindex in drei Gruppen ein. Die Trennung der einzelnen Gruppen erfolgt anhand des Ki-67 Proliferationsindex gemäß den Richtlinien der Graduierung der WHO von 2010. Bei der ersten Gruppe reicht der Ki-67 von 0 bis einschließlich 2 % und beinhaltet 153 Fälle. Bei der zweiten Gruppe reicht der Ki-67 von 3% bis maximal 20% und beinhaltet 82 Fälle. Die dritte Gruppe beinhaltet 23 Tumoren mit einem Ki-67 größer 20%. Die mediane Überlebenszeit für Gruppe Ki-67 $\leq 2\%$, Ki-67 3-20%, Ki-67 $>20\%$ beträgt: mehr als 10 Jahre, 75 Monate und 6 Monate.

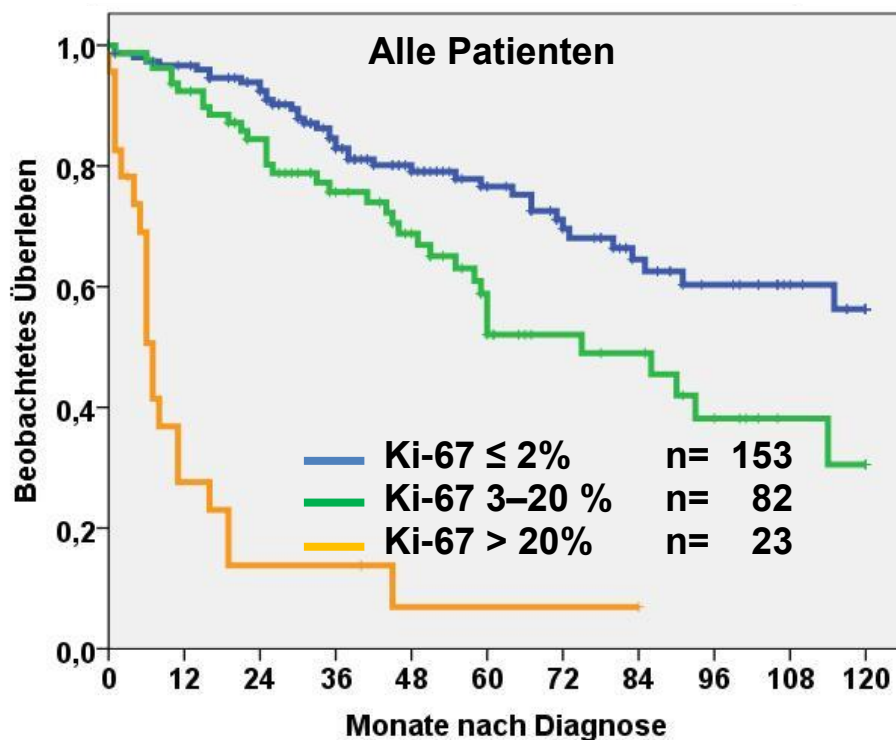


Abbildung 19: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von Ki-67 aufgeteilt gemäß der WHO 2010 Klassifikation in 3 Gruppen

Die 5-Jahres-Überlebensraten der Gruppen Ki-67 $\leq 2\%$, Ki-67 3-20%, Ki-67 $>20\%$ betragen 77%, 52% und 7%. Die 10-Jahres-Überlebensraten dementsprechend 56%, 31% und 7%. Alle diese Gruppen sind paarweise statistisch signifikant ($p=0,06$) (Abbildung 19).

b) Einteilung in 4 Gruppen

Dieser Test teilt das Patientenkollektiv in vier Gruppen ein, die Trennung erfolgt ebenfalls anhand des Ki-67 Proliferationsindex. Bei der ersten Gruppe reicht der Ki-67 von 0 bis einschließlich 2% und beinhaltet 153 Fälle. Bei der zweiten Gruppe reicht der Ki-67 von 3% bis maximal 20% und beinhaltet 82 Fälle. Bei der dritten Gruppe reicht der Ki-67 von 21% bis maximal 40% und beinhaltet 9 Tumoren und die vierte Gruppe beginnt ab einem Ki-67 von 50% und beinhaltet 14 Tumore. Die mediane Überlebenszeit für die Gruppen Ki-67 \leq 2%, Ki-67 3-20%, Ki-67 21-40% und Ki-67 > 40% beträgt: mehr als 10 Jahre, 75 Monate, 6 Monate und 7 Monate.

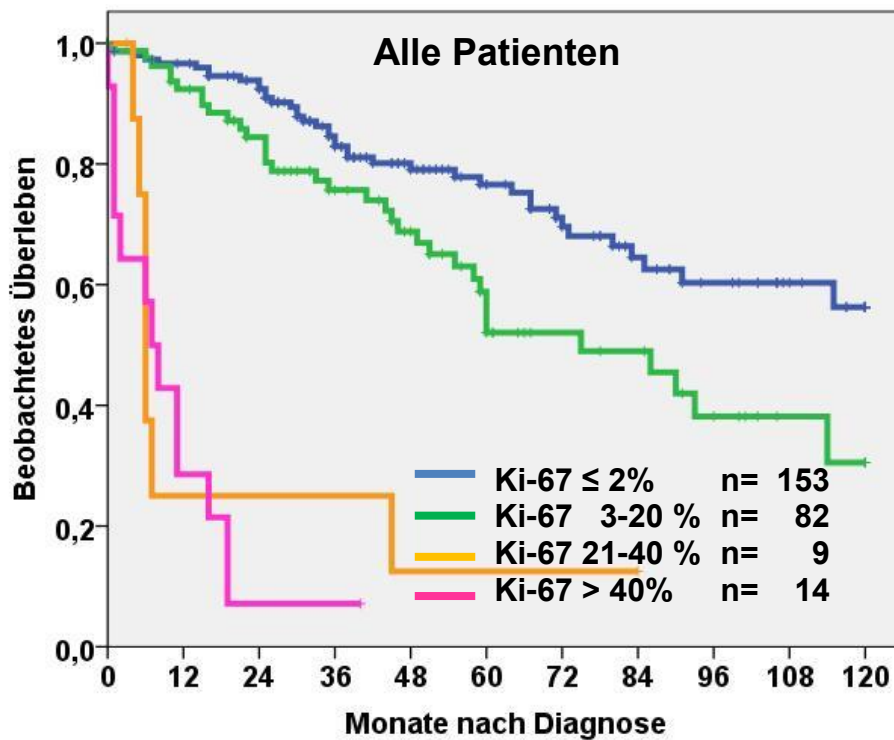


Abbildung 20: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten in Abhängigkeit vom Ki-67 aufgeteilt in vier Gruppen

Die 5-Jahres-Überlebensraten der Gruppen Ki-67 \leq 2%, Ki-67 3-20%, Ki-67 21-40% und Ki-67 > 40% betragen 77%, 52%, 13% und 8%. Die 10-Jahres-Überlebensraten betragen dementsprechend 56%, 31%, 13% und 8%. Dabei ergibt die Auswertung, dass die dritte Gruppe zur vierten Gruppe nicht paarweise statistisch signifikant ist (Abbildung 20).

4.6.9 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von den Mitosen

a) Einteilung in drei Gruppen

Diese Auswertung teilt das Patientenkollektiv in drei Gruppen ein. Die Trennung erfolgt anhand der Mitoseanzahl pro 10 HPF. Die erste Gruppe zählt 0 Mitosen / 10HPF und beinhaltet 77 Patientenfälle. Die zweite Gruppe zählt alle Fälle mit 1 Mitose / 10 HPF und beinhaltet 86 Patienten. Die dritte Gruppe zählt alle Fälle mit mehr als 1 Mitose / 10HPF und beinhaltet 91 Patienten. Die mediane Überlebenszeit für die Gruppen Mitoseanzahl 0, Mitoseanzahl 1 und Mitoseanzahl > 1 beträgt: 115 Monate, mehr als 10 Jahre und 60 Monate.

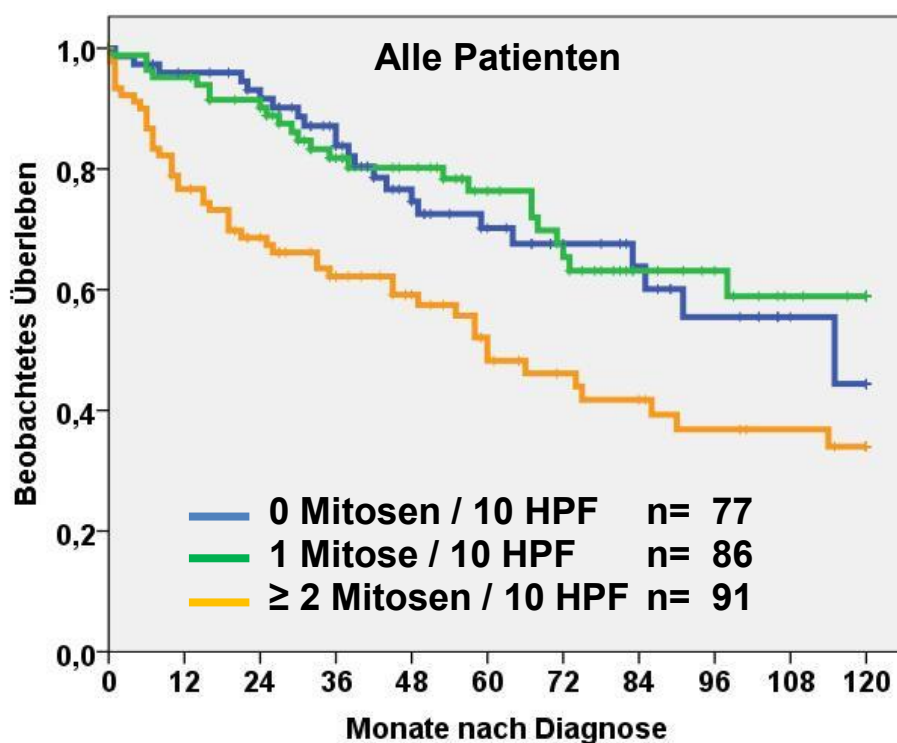


Abbildung 21: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten in Abhängigkeit von der Anzahl der Mitosen / 10HPF eingeteilt in drei Gruppen

Die 5-Jahres-Überlebensraten der Gruppen Mitoseanzahl 0, Mitoseanzahl 1 und Mitoseanzahl > 1 betragen 70%, 77% und 53%, die 10-Jahres-Überlebensraten 44%, 59% und 34%. Die erste Gruppe und die zweite Gruppe sind nicht paarweise statistisch signifikant, die anderen Gruppen sind paarweise statistisch signifikant (Abbildung 21).

b) Einteilung in vier Gruppen

Diese Auswertung teilt das Patientenkollektiv in vier Gruppen ein, die Trennung erfolgt ebenfalls anhand der Mitoseanzahl pro 10 HPF. Die erste Gruppe zählt 0 Mitosen / 10HPF und beinhaltet 77 Patientenfälle. Die zweite Gruppe zählt alle Fälle mit 1 Mitose / 10 HPF, und beinhaltet 86 Patienten. Die dritte Gruppe zählt alle Fälle mit 2 Mitose / 10HPF und beinhaltet 22 Patienten und die vierte Gruppe beinhaltet 69 Patientenfälle bei denen mehr als 2 Mitosen / 10 HPF gezählt worden sind. Die mediane Überlebenszeit für die Gruppen Mitoseanzahl 0, Mitoseanzahl 1, Mitoseanzahl 2 und Mitoseanzahl ≥ 3 beträgt: 115 Monate, mehr als 10 Jahre, mehr als 10 Jahre und 49 Monate.

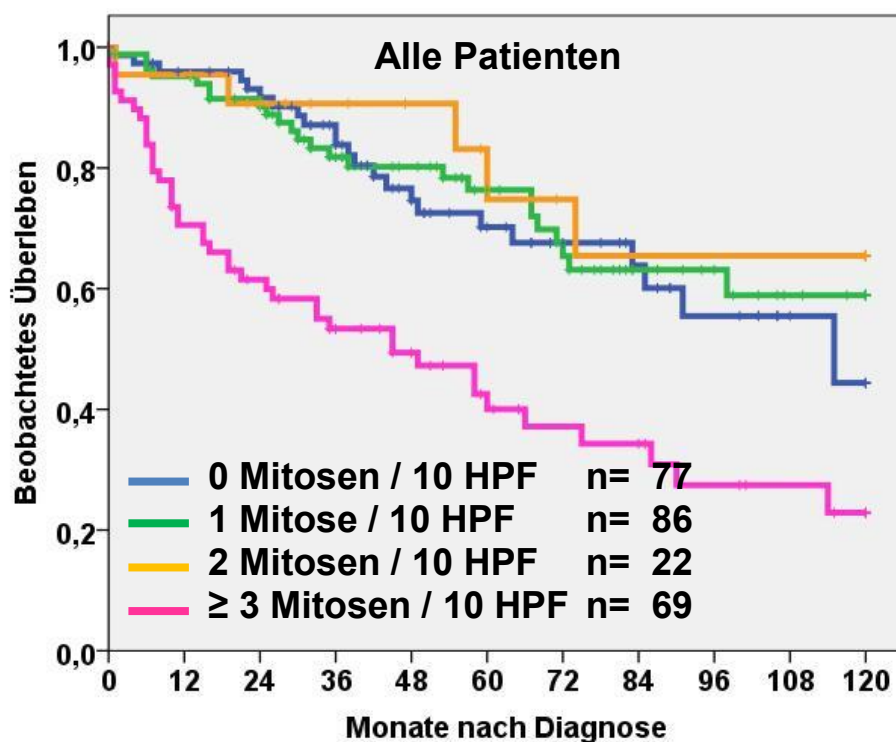


Abbildung 22: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der Anzahl der Mitosen / 10HPF eingeteilt in vier Gruppen

Die 5-Jahres-Überlebensraten der Gruppen Mitoseanzahl 0, Mitoseanzahl 1, Mitoseanzahl 2 und Mitoseanzahl ≥ 3 betragen 70%, 77%, 75% und 41%, die 10-Jahres-Überlebensraten dementsprechend 44%, 59%, 66% und 23%. Auch hier sind die ersten drei Gruppen nicht paarweise statistisch signifikant verschieden (Abbildung 22).

4.6.10 Langzeitüberleben in Abhängigkeit vom pathologischen Stadium nach dem TNM System der UICC (2010)

Bei 258 Patienten kann eine pathologische TNM Stadieneinteilung gemacht werden. Die einzelnen Stadien I, II, III und IV umfassen jeweils 59, 42, 57 und 100 Patienten. Die mediane Überlebenszeit in den einzelnen Stadien beträgt bei Stadium I > 10 Jahre, bei Stadium II ebenfalls > 10 Jahre, bei Stadium III 87 Monate und bei Stadium IV 67 Monate.

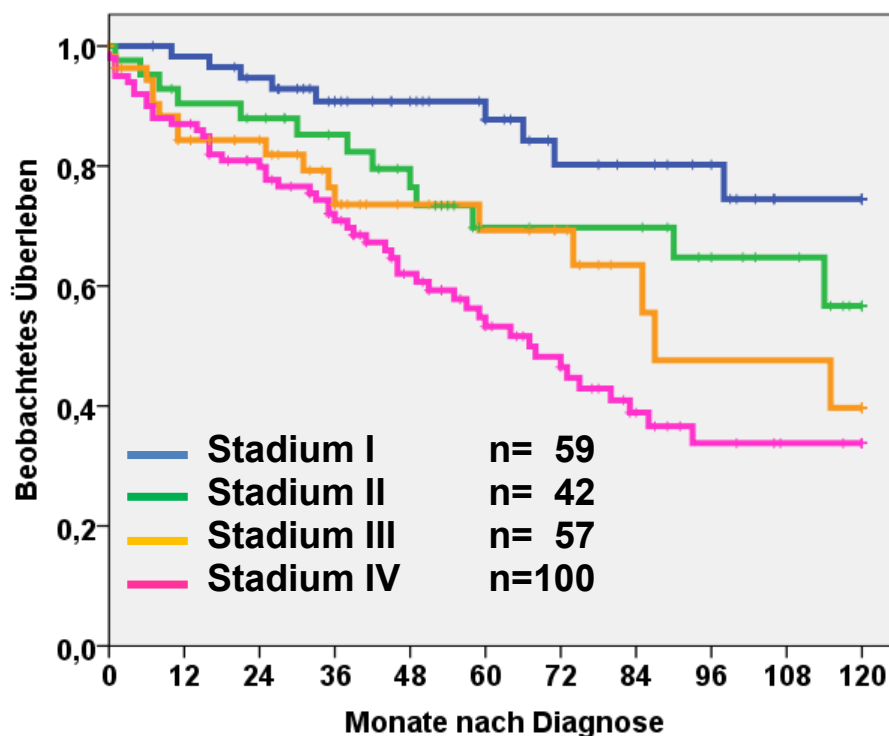


Abbildung 23: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit vom pTNM-Stadium der UICC

Die 5-Jahres-Überlebensraten der einzelnen Stadien sind bei Stadium I 88%, bei Stadium II 70%, bei Stadium III 69% und bei Stadium IV 53%. Die entsprechenden 10-Jahres-Überlebensraten betragen 75%, 57%, 40% bzw. 34%. Stadium I ist zu Stadium II signifikant verschieden. Stadium II zu III und Stadium III zu IV sind nicht paarweise statistisch signifikant (Abbildung 23).

4.6.11 Langzeitüberleben in Abhängigkeit von den Subgruppen NET G3 und NEC G3 bei neuroendokrinen G3 Tumoren

Bei der mikroskopischen Betrachtung der neuroendokrinen G3 Gruppe ist aufgefallen, dass es Großschnitte gibt, bei denen die morphologische Differenzierung eher den gut differenzierten Tumoren (NET G1, NET G2) ähnelt anstatt wie definitionsgemäß den schlecht differenzierten Karzinomen (NEC G3). Deswegen ist die G3 Gruppe zusätzlich unterteilt worden in NET G3 (eher gut differenzierte G3 Tumoren) und NEC G3 (schlecht differenzierte G3 Tumoren). Die NET G3 Gruppe umfasst 5 Patientenfälle, die NEC G3 Gruppe besteht aus 27 Fällen,

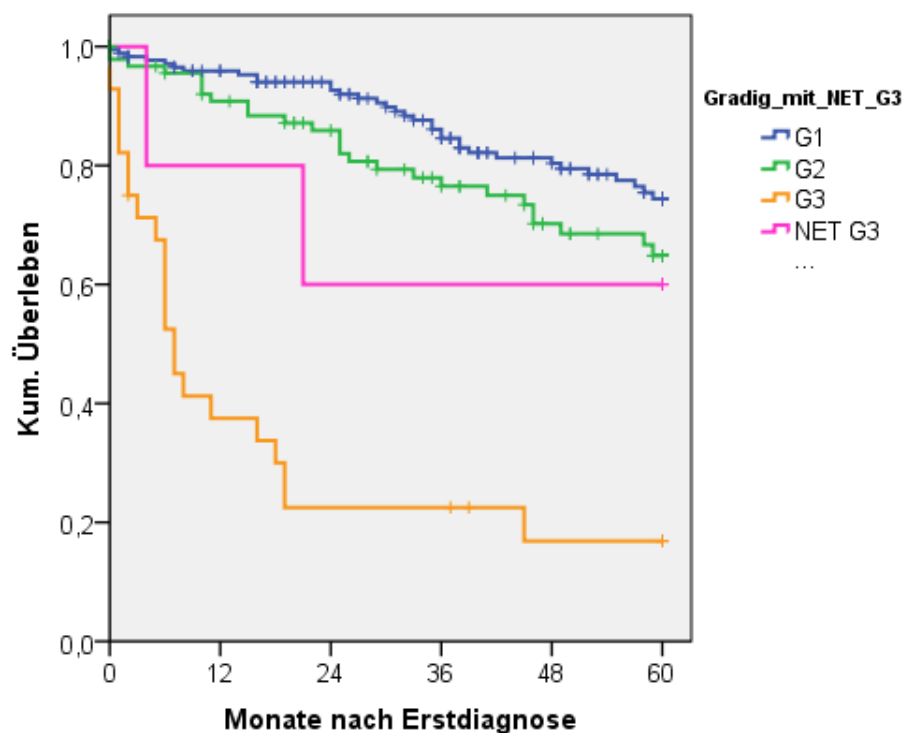


Abbildung 24: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit der WHO Graduierung von 2010 untersucht an G3 Tumoren

Die 5-Jahres Überlebensraten der Gruppen NET G3 und NEC G3 betragen jeweils 59% und 18%. Interessanterweise ist die Kurve der NET G3 (hellrot) eher den NET G1/G2 zugeordnet und nicht den NEC G3 Tumoren.

5. Diskussion

„Nur die strikte Anwendung einer einheitlichen Nomenklatur und Klassifikation kann zu einer verbesserten interdisziplinären Kommunikation und somit auch verbesserten Therapie von Patienten mit neuroendokrinen Tumoren führen“ (Perren et al. 2009). Es gibt wenig Studien, die sich auf die Anwendung der aktuellen Klassifikationen für NEN beziehen (Yang et al. 2014).

Mit dieser Studie soll ein Beitrag zur Validierung der WHO Graduierung von 2010 und des TNM Systems der UICC der 7. Auflage geleistet werden, denn nur durch eine Vereinheitlichung der Klassifikationen für neuroendokrine Neoplasien (NEN) können Ergebnisse weltweit miteinander verglichen werden und somit zum besseren Verständnis dieser Tumorentität beitragen. Die steigende Inzidenz von neuroendokrinen Tumoren insbesondere gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Tumoren (GEP-NET) macht weitere Forschungen absolut notwendig, um Fragen bezüglich der Heterogenität, dem Ansprechen auf Therapie, der Entwicklung neuartiger Medikamente und dem Überleben besser beantworten zu können und somit die Heilungschancen für die Patienten zu erhöhen. In dieser Studie ist ein Tumorkollektiv aus 310 gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Tumoren, die über einen Zeitraum von 20 Jahren am pathologischen Institut der LMU München diagnostiziert wurden, erstellt, ausgewertet und re-klassifiziert worden.

Das Ziel dieser Arbeit ist eine „Re“-klassifizierung basierend auf den aktuellsten Kriterien der WHO Graduierung von 2010 und des TNM Systems der UICC der 7. Auflage vorzunehmen. Dazu sind auch immunhistochemische Untersuchungen an Großschnitten durchgeführt worden.

Ein Ergebnis dieser Arbeit ist, dass die WHO Graduierung von 2010 im Vergleich zur WHO Graduierung von 2000 eine deutlich bessere Trennschärfe besitzt, da die Graduierung von 2010 alle drei Kategorien statistisch signifikant unterscheidet. Außerdem haben die Analysen ergeben, dass die WHO Graduierung von 2010 im Vergleich zur TNM Stadieneinteilung der UICC von 2010 der bessere Stratifizierungsmarker ist, da bei der Stadieneinteilung die einzelnen Stadien nicht paarweise statistisch signifikant unterschieden werden. Folglich klassifiziert die WHO Graduierung von 2010 GEP-NETs sehr gut. Des Weiteren konnte durch die gesonderte Untersuchung der neuroendokrinen WHO G3 Tumorgruppe festgestellt werden, dass diese Gruppe morphologisch heterogen ist und sowohl gut differenzierte als auch schlecht differenzierte Tumoren mit unterschiedlichen Ki-67 Proliferationsindizes enthält. Dies deckt sich mit Publikationen von anderen Forschungsgruppen, welche diese Unstimmigkeit in der NEC G3 Gruppe auch schon publiziert haben (Tang et al. 2016, Velayoudom-Cephise et al. 2013, Basturk et al. 2015). Um die Heterogenität von neuroendokrinen WHO G3 Tumoren auch auf molekularer Ebene beweisen zu können,

müssen noch molekularpathologische Untersuchungen durchgeführt werden, die aktuell am Pathologischen Institut der LMU vorbereitet werden.

5.1 WHO Graduierung von 2010

5.1.1 Vergleich WHO Graduierung von 2010 mit der WHO Graduierung von 2000

Ein Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist, dass durch die WHO Graduierung von 2010 die Kategorien NET G1, NET G2, NEC G3 exakter voneinander getrennt werden als das bei der Graduierung von 2000 der Fall ist. Die Kategorie NET G1 der Graduierung von 2010 wird dabei statistisch signifikant von der Kategorie NET G2 unterschieden. Kategorie NET G1 wird signifikant von NEC G3 ($p < 0,001$) unterschieden, ebenso NET G2 von NEC G3 ($p < 0,001$). Bei der WHO Graduierung von 2000 wird die Kategorie G1 nicht statistisch signifikant von der Gruppe G2 unterschieden. Somit zeigt die WHO Graduierung von 2010 eine bessere Trennschärfe aller drei Kategorien bei GEP-NETs. Die momentane Einteilung anhand des Ki-67 Proliferationsindex, die der aktuellen Kategorisierung zugrunde liegt, ist sinnvoll und praktikabel. Auch hier haben die Analysen im Rahmen der Dissertation ergeben, dass die drei eingeteilten Gruppen Ki-67 $\leq 2\%$ (NET G1), Ki-67 3-20% (NET G2), Ki-67 $> 20\%$ (NET G3) statistisch signifikant voneinander getrennt werden. Nichtsdestotrotz darf die morphologische Differenzierung nicht außer Acht gelassen werden, vor allem in der WHO NEC G3 Tumorgruppe.

Dieses Ergebnis zur WHO Graduierung von 2010 ist ähnlich bei Dolcetta-Capuzzo et al. 2013, der zu der Schlussfolgerung kam, dass die Graduierung von 2010 zwischen mild und aggressivem Tumor besser trennt als die von 2000 (Dolcetta-Capuzzo et al. 2013). Auch Lee et al. 2014 ist der Meinung, dass die WHO Graduierung von 2010 genauer ist bezüglich Trennung (Lee et al. 2014).

5.1.2 Die Prognostische Wertigkeit der WHO Graduierung von 2010

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass bei einem als NET G1 klassifizierten Tumor eine Tumorprogression wenn überhaupt erst viel später als bei einem NET G2 klassifizierten Tumor stattfindet. Daraus folgt auch, dass ein NET G1 eine höhere Überlebenswahrscheinlichkeit hat als ein NET G2. Bei einem NEC G3 findet eine noch schnellere Tumorprogression statt und demnach würde eine noch geringere Überlebenswahrscheinlichkeit folgen.

Diese Hypothese deckt sich sehr gut mit den in der vorliegenden Arbeit erstellten Überlebensraten für NET G1, NET G2 und NEC G3. Voraussetzung für Überprüfung dieser Hypothese ist, dass NET G1, NET G2 und NEC G3, eingeteilt nach den Richtlinien der WHO von 2010, signifikant voneinander getrennt werden können. Diese Voraussetzung wurde in der vorliegenden Arbeit erfüllt. Die 5-Jahres-Überlebensraten für die Kategorien NET G1,

NET G2 und NEC G3 betragen jeweils 74%, 56% und 16% und die 10-Jahres-Überlebensraten betragen jeweils 56%, 36% und 16%. Das bedeutet, ein NET G1 weist nach 10 Jahren eine 30% höhere Überlebenswahrscheinlichkeit auf als ein NEC G3 Tumor. Auch Aurajo et al. 2013 kam zu dem Ergebnis, dass die NET G1, NET G2, NEC G3, eingeteilt nach den Kriterien der WHO 2010, eine absteigende Überlebenswahrscheinlichkeit haben (Araujo et al. 2013). Auch Yang et al. 2014 hat in univariate und multivariate Analysen bei Pankreastumoren ausgewertet, dass die WHO 2010 einen signifikanten prognostischen Faktor für das Überleben darstellt (Yang et al. 2014). Dies deckt sich ebenfalls mit den Ergebnissen der vorliegenden Dissertation für das spezielle Patientenkollektiv der neuroendokrinen Pankreastumoren.

Im Gegensatz dazu war Morin et al. 2013 der Meinung, dass die WHO 2010 bei „PFS = progression free survival“ sehr aussagekräftig ist, nicht aber beim „overall survival“. Dies war ein überraschendes Ergebnis, das der Autor mit der geringen Anzahl an NEC G3 Tumoren (3 Fälle) zu erklären versucht (Morin et al. 2013).

5.1.3 Untersuchungen der Trennschärfe der WHO Graduierung von 2010 bei den Lokalisationen Pankreas und Dünndarm

An einem gesonderten kleineren Patientenkollektiv, das nur neuroendokrine Pankreastumoren (P-NET) beinhaltet (78 Fälle), ist die Korrelation der Graduierung der WHO von 2010 mit der Überlebenswahrscheinlichkeit untersucht worden. Bei dieser Subgruppe ergaben die Analysen der vorliegenden Arbeit, dass die WHO Graduierung von 2010 alle drei Gruppen NET G1, NET G2, NEC G3 statistisch signifikant voneinander trennt und somit auch neuroendokrine Pankreastumoren sehr gut klassifiziert.

Bei Ricci et al. 2014 konnten P-NET der Kategorien NET G1 und NET G2 nicht statistisch signifikant voneinander getrennt werden. Er ist der Meinung, dass die NET G2 Gruppe bei den P-NET zu breit gefächert ist und hat anhand eines Modellversuchs aufgezeigt, dass die NET G2 Gruppe zusätzlich unterteilt werden könnte in Ki-67 zwischen 2-5% und 5-20%. Er ist der Meinung, so geringgradig maligne und mittelgradig maligne Tumoren in der G2 Gruppe besser fassen und somit die Prognoseeinschätzung verbessern zu können (Ricci et al. 2014). Nichtsdestotrotz spricht er an, dass die schlechte Trennschärfe der NET G1 und NET G2 Kategorien auch mit der geringen Fallzahl von 61 Patienten zusammen hängen könnte.

In den Analysen der Subgruppe P-NETs können in der vorliegenden Arbeit alle Kategorien statistisch signifikant voneinander getrennt werden. Die WHO Graduierung von 2010 klassifiziert somit auch neuroendokrine Pankreastumoren sehr gut. Die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zeigen, dass die WHO Graduierung nicht erneut komplett neu

gestaltet werden sollte, da dies möglicherweise zu keiner Verbesserung der Klassifikation von NEN führt, sondern zu einer erneuten begrifflichen Verwirrung.

Dieses Ergebnis der P-NETs Subgruppe ist allerdings gegensätzlich zur zweiten in dieser Arbeit untersuchten Subgruppe, den neuroendokrinen Dünndarmtumoren. Das Ergebnis der Analysen ist, dass die WHO Graduierung von 2010 nicht signifikant zwischen gut differenzierten neuroendokrinen Tumoren (NET G1) und gut differenzierten neuroendokrinen Karzinomen (NET G2) trennen kann. Ursache dafür könnte sein, dass im Rahmen der Dissertation die Analysen an einem sehr kleinen Patientenkollektiv von 141 neuroendokrinen Dünndarmtumoren durchgeführt worden sind. Interessant wäre es, diesen Sachverhalt an einem deutlich größeren Patientenkollektiv zu testen.

5.1.4 Tumordurchmesser

Die Auswertung des Tumordurchmessers bei GEP-NETs hat ergeben, dass der Tumordurchmesser in der WHO Kategorie NEC G3 fünfmal so häufig größer gleich 2 cm war. Davon kann man ableiten, dass einer Neoplasie mit einem Tumordurchmesser von größer gleich 2 cm ein deutlich höheres Malignitätspotential innewohnt, als das bei Neoplasien kleiner 2 cm der Fall ist. Dies spiegelt sich auch in den 5- bzw. 10-Jahresüberlebensraten wider. Tumoren mit einem Durchmesser kleiner 2 cm hatten eine 5 bzw. 10-Jahresüberlebensrate von 81% bzw. 71%. Bei Tumoren mit einem Durchmesser größer gleich 2 cm waren diese Raten deutlich schlechter nämlich 53% bzw. 28%. Somit besitzt der Tumordurchmesser zum Zeitpunkt der Resektion in der vorliegenden Arbeit eine statistisch signifikante Aussagekraft bezüglich der Prognoseabschätzung.

Yang et al. 2014 unterstützt diese Aussage, dass der Tumordurchmesser bei NET G1 merklich kleiner ist und sich deutlich von NET G2, NET G3 und MANECs unterscheidet (Yang et al. 2014). Auch Jernman et al. 2012 hat ermittelt, dass NETs mit einem Tumor kleiner gleich 2 cm ein geringeres Metastasierungspotential aufweisen als größere Tumoren ($p < 0,001$) (Jernman et al. 2012).

Dolcetta-Capuzzo et al. 2013 dagegen hat in seiner Arbeit veröffentlicht, dass die Tumorgröße keinen Einfluss auf das Überleben hat. (Dolcetta-Capuzzo et al. 2013). Dies könnte daran liegen, dass in dieser Veröffentlichung nur eine geringe Anzahl an NET G2 und NEC G3 Fällen miteinbezogen wurde (11 bzw. 21 Fälle).

Die vorliegenden Analysen in dieser Arbeit ergaben eindeutig, dass GEP-NET Tumoren mit einem Durchmesser größer gleich 2 cm ein deutlich höheres Malignitätspotential und somit eine geringere Überlebensrate aufweisen als Tumoren kleiner 2 cm.

5.1.5 Korrelation von klinisch-pathologischen Parametern mit der WHO Graduierung von 2010 (Alter, Geschlecht, Lymphknotenmetastasierung(N), Fernmetastasierung(M), Lokalisationsort, Resektionsrate(RO))

In der vorliegenden Dissertation lässt weder das Alter der Patienten mit einem GEP-NET, noch die geschlechtliche Trennung eine statistisch signifikante Aussage zum Überleben der verschiedenen Gruppen zu. Außerdem spielt im zugrunde liegenden Patientenkollektiv die absente (N0) oder vorhandene (N1) Lymphknotenmetastasierung keine Rolle bezüglich der Prognose. Dies steht im Gegensatz zu Bilimoria et al., Halfdanarson et al. und Yang et al., die alle das fortgeschrittene Alter mit einer schlechteren Prognose für pankreatische neuroendokrine Neoplasien verbunden haben (Bilimoria et al. 2008, Halfdanarson et al. 2008, Yang et al. 2014).

Weitere Auswertungen des GEP-NET Tumorkollektivs im Rahmen der Dissertation haben ergeben, dass bei Tumoren klassifiziert als NEC G3 doppelt so häufig Fernmetastasen vorliegen als bei NET G1 Tumoren. Unabhängig von der Graduierung beträgt die mediane Überlebenszeit der M0 (keine Fernmetastasierung) Gruppe mehr als 10 Jahre, die der M1 (Fernmetastasierung) Gruppe nur 4 Jahre 8 Monate. Davon lässt sich ableiten, dass ein Patient mit einer Fernmetastasierung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose eines GEP-NETs eine deutlich geringere Überlebenswahrscheinlichkeit hat. Dies deckt sich mit der Aussage von Solorzano et al. und Chu et al., dass bei neuroendokrinen Pankreastumoren die Fernmetastasierung eine schlechte Prognose darstellt (Solorzano et al. 2001, Chu et al. 2002).

Darüber hinaus war auffällig, dass im Vergleich der speziellen neuroendokrinen Patientenkollektive von Pankreas und Dünndarm, Pankreastumoren fünfmal so häufig als NEC G3 klassifiziert wurden als Dünndarmtumore. Dies spricht dafür, dass auch die Lokalisation einen Rückschluss auf das Malignitätspotential zulässt.

In dieser Studie waren Tumordurchmesser, Fernmetastasierung und die WHO Graduierung von 2010 bedeutende prognostische Faktoren für die Überlebenswahrscheinlichkeit von Patienten mit gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Tumoren.

5.2 TNM Stadieneinteilung

Ein weiteres Ergebnis dieser Arbeit ist, dass die TNM-Klassifikation der UICC von 2010 die einzelnen Gruppen II, III, IV nicht paarweise statistisch signifikant trennt. Dies ist ein Nachteil der TNM-Klassifikation. Die 5- bzw. 10-Jahres-Überlebensraten für die Stadien I, II, III und IV betragen jeweils 88%, 70%, 79% und 53% bzw. 75%, 57%, 40% und 43%. Gründe für die ungenaue Trennschärfe sind, dass die aktuelle Stadieneinteilung nur die Kategorien Größe (T), Lymphknotenbefall (N) und Fernmetastasierung (M) umfasst und die Biologie von neuroendokrinen Tumoren etwas außen vor lässt. Bei NEN spielt aber vor allem auch der

Differenzierungsgrad bzw. der Proliferationsindex eine große Rolle und diesem wird in der TNM Einteilung keine Beachtung geschenkt. Morin et al. 2013 hingegen hat dem TNM der UICC eine gute prognostische Wertigkeit bezüglich der PFS und der OS zugesprochen (Morin et al. 2013).

Zusätzlich kann beobachtet werden, dass deutlich mehr diagnostizierte neuroendokrine Rektum- und Appendix Tumoren dem Stadium I zugeteilt wurden, nämlich 75% bzw. 76%. Im Gegensatz dazu ist die Hälfte aller neuroendokrinen Tumoren im Dünndarm und im Kolon (48% bzw. 57%) bereits zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ins Stadium IV eingeteilt. Die häufige Zuteilung zu Stadium I bei Rektumtumoren kann daran liegen, dass bei regelmäßigen endoskopischen Krebsvorsorgeuntersuchungen Tumoren frühzeitig erkannt werden und sich somit zum Zeitpunkt der Erstdiagnose noch in einem frühen Stadium der Krebserkrankung befinden. Bei Appendix Tumoren kann die häufige Einteilung in Stadium I darin begründet liegen, dass neuroendokrine Tumore der Appendix häufig Zufallsbefunde der Appendektomie sind und oft in einem frühen Stadium mit entfernt werden.

5.3 Koexistenz von TNM UICC System und der WHO Graduierung von 2010

Vergleicht man die Aussagekraft beider Klassifikationen der NEN bezüglich der Überlebenswahrscheinlichkeit, so lässt die ungenaue Trennschärfe des TNM Systems der UICC den Schluss zu, dass die WHO Graduierung von 2010 der bessere Stratifizierungsmarker ist.

Nichtsdestotrotz haben beide Systeme ihre Vor- und Nachteile. Die WHO Graduierung von 2010 versucht die biologische Vielfalt der neuroendokrinen Tumore zu fassen und somit das dem Tumor innewohnende maligne Potential zu bestimmen. Dies gelingt ihr sehr gut. Voraussetzung dafür ist eine aufwendige immunhistochemische und mikroskopische Untersuchung durch einen Pathologen. Die TNM Stadieneinteilung dagegen hat sich für die meisten Tumorentitäten bewährt und wird im Klinikalltag häufig verwendet. Deswegen ist es ein wichtiger Schritt der UICC gewesen, eine TNM Stadieneinteilung für gastrointestinale neuroendokrine Tumore zu entwickeln, die international anerkannt wird. Die Trennschärfe der einzelnen TNM Stadien muss noch modifiziert werden.

5.4 Die Heterogenität der neuroendokrinen G3 Tumoren

Beim erneuten mikroskopischen Betrachten der WHO G3 Gruppe sind 5 ungewöhnliche G3 Fälle aufgefallen, die alle eher einem gut differenzierten neuroendokrinen Tumor (NET G1, NET G2) ähnlich sind. Dies steht im Gegensatz zur Definition der WHO G3 Gruppe, die nur schlecht differenziert Karzinome beinhaltet. Diese untypischen gut differenzierten WHO G3 Fälle sind in der vorliegenden Arbeit NET G3 genannt worden. In der vorliegenden Arbeit ist die Hypothese aufgestellt worden, dass diese eher gut differenzierten neuroendokrinen WHO

G3 Tumoren eine bessere Überlebenswahrscheinlichkeit haben. Offenbar haben sie eine andere Biologie. Diese Hypothese deckt sich mit den Analysen der vorliegenden Arbeit, dass diese speziellen NET G3 Fälle, eine deutlich höhere Überlebenswahrscheinlichkeit vorzuweisen haben, als die restlichen schlecht differenzierten NEC G3. Die 5-Jahresüberlebensraten betragen bei NET G3 Tumoren 59% und bei NEC G3 Tumoren nur 18%. Außerdem kann man sehen, dass der Ki-67 Proliferationsindex bei NET G3 tendenziell niedriger ist, nämlich in einem Bereich zwischen 20-40%.

In der Literatur wurden bereits Auffälligkeiten bei der Klassifikation von NEN mit einem Ki-67 Proliferationsindex um die 20% beschrieben. La Rosa et. al. 2011 meinte, es sei leicht, einen NEC (Ki-67 meist >40%) zu diagnostizieren anhand von auffälligen Merkmalen wie hohe Proliferationsrate, Nekrosen und zellatypische Besonderheiten. Als schwierig empfindet er es, niedrig maligne Neoplasien von Neoplasien mit höherem Malignitätspotential abzugrenzen, also Neoplasien mit einem Ki-67 Proliferationsindex um die 20%, da diese oft nicht typische Merkmale aufweisen. Deswegen empfiehlt er bei der Klassifikation sowohl auf den Proliferationsindex als auch auf die histologische Differenzierung zu achten (La Rosa et al. 2011).

Velayoudom-Cephise hat erstmals versucht, diese zuvor beschriebenen ungewöhnlichen Fälle in G3 Subkategorien einzuteilen, nämlich in „well-differentiated NET (G3-WDNET)“ und „poorly-differentiated, large-cell NEC (G3-LCNEC)“ (Velayoudom-Cephise et al. 2013). Seiner Meinung nach passt der Tumor G3-WDNET in keine der von der WHO 2010 definierten Kategorien, da er sich von eindeutigen schlecht-differenzierten neuroendokrinen Karzinomen sowohl in der Diagnose, der Prognose als auch dem Ansprechen auf die Cisplatin basierte Chemotherapie deutlich unterscheidet. Diagnostisch unterscheidet sich ein G3-WDNET insofern von einem G3-LCNEC, da er weniger Nekrosen beinhaltet und kleinzellig ist. Prognostisch unterscheidet sich ein G3-WDNET von einem G3-LCNEC da dieser in 75% der Fälle ein besseres Überleben hat, ein G3-LCNEC in nur 37,5% und therapeutisch spricht ein G3-WDNET nur sehr schlecht auf die Cisplatin basierte Chemotherapie an. Einzige Gemeinsamkeit dieses G3-WDNET mit G3-LCNEC sind Ki-67 Werte von über 20%. Er empfiehlt neuroendokrine G3 Tumoren nicht als synonym für ein schlecht differenziertes Karzinom zu verwenden, sondern in diesem Fall zusätzlich abhängig vom Proliferationsindex und der histologischen Differenzierung zu unterscheiden (Velayoudom-Cephise et al. 2013).

Die aktuellste Publikation zu diesem Thema hat Laura H. Tang et al 2016 verfasst. Sie hat herausgefunden, dass die WHO G3 Gruppe heterogen ist und sowohl gut differenzierte Tumore als auch schlecht differenzierte Tumoren enthält. Auch ihrer Meinung nach ist in der G3 Kategorie sowohl der Ki-67 Proliferationsindex als auch der morphologische Differenzierungsgrad wichtig (Tang et al. 2016).

Eine noch zu bestätigende Hypothese ist, dass einem gut differenzierten neuroendokrinen G3 Tumor eine andere Tumorentstehung zugrunde liegt als einem schlecht differenzierten Tumor, zum Beispiel durch Fehlen oder Vorhandensein bestimmter Gene. Dazu werden allerdings noch weitere molekularpathologische Studien benötigt, welche die Heterogenität der neuroendokrinen WHO G3 Gruppe auch auf molekularer Ebene beweisen.

5.5 Schlussfolgerungen

Die WHO Graduierung von 2010 klassifiziert gastroentero-pankreatische neuroendokrine Tumoren sehr gut. Sie besitzt eine bessere Trennschärfe als die WHO Graduierung von 2000. Im Vergleich mit der TNM Stadieneinteilung der UICC ist die WHO Graduierung von 2010 der bessere Stratifizierungsmarker, nichtsdestotrotz sollte das TNM System verbessert werden und beide simultan angewendet werden. Darüber hinaus stellen sowohl der Tumordurchmesser, als auch die Fernmetastasierung weitere bedeutende prognostische Faktoren dar. Auch im der Arbeit zugrundeliegenden Patientenkollektiv ist die WHO G3 Gruppe heterogen und enthält sowohl gut differenzierte als auch schlecht differenzierte neuroendokrine G3 Tumoren. Hier müssen allerdings noch weitere molekularpathologische Studien durchgeführt werden, um die Heterogenität auch auf molekularer Ebene bestätigen zu können.

6. Zusammenfassung

Die WHO 2010 definiert neuroendokrine Neoplasien (NEN) als Tumoren, die aus dem diffusen neuroendokrinen System entstehen. Heutzutage werden alle NEN als potentiell maligne angesehen und unterscheiden sich nur in der Wahrscheinlichkeit der Metastasierung (Bosman et al. 2010). Eine Herausforderung für die Erforschung dieser Tumorentität ist die große Variabilität ihrer Biologie, des klinischen Verhaltens, dem Ansprechen auf Therapie und dem Überleben (Basu et al. 2010, Modlin et al. 2008b, Pape et al. 2008b, Knösel et al. 2012). Die aktuellen Klassifikationen der NEN beruhen auf den Richtlinien der im Jahr 2010 modifizierten WHO Graduierung und der TNM Einteilung der UICC für NEN aus dem Jahr 2010. Es gibt aber noch wenige Studien, die die Validität der WHO Klassifikation von 2010 bestätigen (Yang et al. 2014). Beide Einteilungen müssen durch entsprechende Studien auf ihre Gültigkeit überprüft werden, um sie in Zukunft als Basis für weltweite Forschung verwenden zu können. Im Bereich neuroendokriner Neoplasien sind weitere Forschungen notwendig, um Fragen bezüglich der Heterogenität, dem Ansprechen auf Therapie, der Entwicklung neuartiger Medikamente und dem Überleben besser beantworten zu können und somit die Heilungschancen für die Patienten zu erhöhen. Die Ziele dieser Arbeit waren, ein Tumorkollektiv aus gastroentero-pankreatischen neuroendokrinen Tumoren (GEP-NET) am Pathologischen Institut der LMU aufzubauen, um dieses als Basis für weitere Forschungen verwenden zu können. Anschließend sollte das GEP NET Tumorkollektiv ausgewertet und eine Korrelation von klinisch-pathologischen Parametern - einschließlich dem Überleben – vorgenommen werden, um genauere Aussagen über diese Tumorentität treffen zu können. Ein besonderes Augenmerk lag dabei auf der „Re“- Klassifizierung des Tumorkollektivs nach neuesten Richtlinien der WHO Graduierung von 2010 und der TNM Einteilung der UICC von 2010. Dabei sollte die Validität der aktuellsten Klassifikationen überprüft werden und somit ein Beitrag zur weltweiten Anerkennung der Klassifikationen für NEN geleistet werden. Schließlich sollte eine Untersuchung der neuroendokrinen WHO G3 Tumoren vorgenommen werden, um eine mögliche Heterogenität dieser speziellen Gruppe bestätigen zu können.

Die verwendeten Datensätze wurden vom Tumorregister München und vom Pathologischen Institut der LMU bereitgestellt. Diese Datensätze mit Informationen zu Patienten mit mindestens einem neuroendokrinen Tumor wurden miteinander abgeglichen und daraus ein GEP-NET Tumorkollektiv erstellt. Anschließend wurde eine Tabelle erstellt mit sämtlichen pathohistologischen Merkmalen und dem Überleben. Um unvollständige Patientendaten ergänzen zu können, erfolgte eine Sichtung histologischer Befunde aus dem Archiv, eine Auswertung klinischer Daten sowie eine Anforderung von Informationen in Briefform bei

dafür zuständigen Einwohnermeldeämtern bezüglich des Überlebens. Ergänzend dazu wurden Großschnitte aus dem Archiv geholt und erneut mikroskopisch begutachtet. Teilweise wurden Großschnitte immunhistochemisch nachgefärbt, um den Ki-67 Proliferationsindex exakt bestimmen zu können. Anschließend wurden alle Patientenfälle nach den aktuellsten Richtlinien der WHO Graduierung von 2010 „re“-klassifiziert. Eine Einteilung in das TNM Stadiensystem erfolgte analog der WHO Graduierung und nur bei Wissenslücken wurden zusätzliche Informationen aus den klinischen Datensätzen hinzugezogen.

Ein Ergebnis dieser Arbeit ist das erstellte GEP NET Tumorkollektiv des Pathologischen Institut der LMU, das 310 ausgewertete Patientenfälle beinhaltet. Bei allen 310 Patientenfällen war es möglich eine Einteilung gemäß den aktuellen Richtlinien der WHO Graduierung von 2010 in die Kategorien NET G1, NET G2 und NEC G3 vorzunehmen. Darüber hinaus haben die Auswertungen im Rahmen der vorliegenden Dissertation ergeben, dass die WHO Graduierung von 2010 signifikant ($p = < 0,05$) besser trennt zwischen NET G1, NET G2 und NEC G3 und somit der Graduierung von 2000 überlegen ist, da diese nur zwischen gut und schlecht differenzierten Tumor signifikant unterscheidet. In 258 Fällen kann auch eine TNM Stadieneinteilung nach UICC Richtlinien von 2010 erfolgen. Bei der Korrelation von Überleben mit der TNM Stadieneinteilung haben die Analysen ergeben, dass die einzelnen Stadien nicht statistisch signifikant voneinander getrennt werden können. Daraus kann abgeleitet werden, dass die WHO Graduierung von 2010 im Vergleich zur Stadieneinteilung der UICC von 2010 der bessere Stratifizierungsmarker ist. Des Weiteren hat die Untersuchung der neuroendokrinen WHO G3 Tumoren ergeben, dass diese Gruppe heterogen ist und sowohl gut differenzierte Tumoren (NET G3), als auch schlecht differenzierte NEC Tumoren (NEC G3) enthält, die sich deutlich in der Überlebenswahrscheinlichkeit unterscheiden. So hat ein NET G3 nach 5 Jahren eine Überlebensrate von 61 % und ein NEC G3 von nur 18 %. Um die Heterogenität auch auf molekularer Ebene beweisen zu können, müssen in weiterführenden Studien noch molekulopathologische Untersuchungen dieser WHO G3 Tumoren durchgeführt werden.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die neue WHO Graduierung der NEN gemäß den aktuellen Richtlinien von 2010 gastroentero-pankreatische neuroendokrine Tumoren sehr gut klassifiziert und eine bessere Trennschärfe als die WHO Graduierung von 2000 besitzt. Außerdem gelingt ein Abschätzen der Überlebenswahrscheinlichkeit der einzelnen Kategorien mit der WHO Graduierung von 2010 besser als mit der TNM Stadieneinteilung der UICC von 2010. Neuroendokrine WHO G3 Tumoren sind heterogen und können sowohl gut differenzierte als auch schlecht differenzierte Karzinome enthalten. Somit sollten bei der Klassifikation dieser neuroendokrinen WHO G3 Tumoren sowohl dem Ki-67 Proliferationsindex als auch der morphologischen Differenzierung Beachtung geschenkt

werden. Es sollten immer beide Merkmale mit in die Entscheidungsfindung einbezogen werden.

7. Literaturverzeichnis

- Anlauf M. 2011. Neuroendocrine neoplasms of the gastroenteropancreatic system: pathology and classification. *Horm Metab Res*, 43 (12):825-831.
- Anlauf M, Gerlach P, Schott M, Raffel A, Krausch M, Knoefel WT, Pavel M, Kloppel G. 2011. [Pathology of neuroendocrine neoplasms]. *Chirurg*, 82 (7):567-573.
- Antigen DMMA-HK. <download.pdf>.
- Araujo PB, Cheng S, Mete O, Serra S, Morin E, Asa SL, Ezzat S. 2013. Evaluation of the WHO 2010 grading and AJCC/UICC staging systems in prognostic behavior of intestinal neuroendocrine tumors. *PLoS One*, 8 (4):e61538.
- Arnold R. 1997. [Carcinoid tumor--a questionable entity?]. *Chirurg*, 68 (2):132-135.
- Basturk O, Yang Z, Tang LH, Hruban RH, Adsay V, McCall CM, Krasinskas AM, Jang KT, Frankel WL, Balci S, Sigel C, Klimstra DS. 2015. The high-grade (WHO G3) pancreatic neuroendocrine tumor category is morphologically and biologically heterogeneous and includes both well differentiated and poorly differentiated neoplasms. *Am J Surg Pathol*, 39 (5):683-690.
- Basu B, Sirohi B, Corrie P. 2010. Systemic therapy for neuroendocrine tumours of gastroenteropancreatic origin. *Endocr Relat Cancer*, 17 (1):R75-90.
- Bilimoria KY, Talamonti MS, Tomlinson JS, Stewart AK, Winchester DP, Ko CY, Bentrem DJ. 2008. Prognostic score predicting survival after resection of pancreatic neuroendocrine tumors: analysis of 3851 patients. *Ann Surg*, 247 (3):490-500.
- Bosman FT, World Health Organization., International Agency for Research on Cancer. 2010. WHO classification of tumours of the digestive system. 4th Aufl. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Capella C, Heitz P, Höfler H, Solcia E, Klöppel G. 1995a. Revised classification of neuroendocrine tumours of the lung, pancreas and gut. *Virchows Arch*, 425 (6):547-560.
- Capella C, Heitz PU, Hofler H, Solcia E, Kloppel G. 1995b. Revised classification of neuroendocrine tumours of the lung, pancreas and gut. *Virchows Arch*, 425 (6):547-560.
- Chu QD, Hill HC, Douglass HO, Jr., Driscoll D, Smith JL, Nava HR, Gibbs JF. 2002. Predictive factors associated with long-term survival in patients with neuroendocrine tumors of the pancreas. *Ann Surg Oncol*, 9 (9):855-862.
- Dolcetta-Capuzzo A, Villa V, Albarello L, Franchi GM, Gemma M, Scavini M, Di Palo S, Orsenigo E, Bosi E, Doglioni C, Manzoni MF. 2013. Gastroenteric neuroendocrine neoplasms classification: comparison of prognostic models. *Cancer*, 119 (1):36-44.
- Fritz AG. 2000. International classification of diseases for oncology : ICD-O. Third edition, First revision. Aufl.
- Halfdanarson TR, Rabe KG, Rubin J, Petersen GM. 2008. Pancreatic neuroendocrine tumors (PNETs): incidence, prognosis and recent trend toward improved survival. *Ann Oncol*, 19 (10):1727-1733.
- Hemminki K, Li X. 2001. Incidence trends and risk factors of carcinoid tumors: a nationwide epidemiologic study from Sweden. *Cancer*, 92 (8):2204-2210.
- Jann H, Roll S, Couvelard A, Hentic O, Pavel M, Müller-Nordhorn J, Koch M, Röcken C, Rindi G, Ruszniewski P, Wiedenmann B, Pape UF. 2011. Neuroendocrine tumors of midgut and hindgut origin: Tumor-node-metastasis classification determines clinical outcome. *Cancer*.
- Jernman J, Valimaki MJ, Louhimo J, Haglund C, Arola J. 2012. The novel WHO 2010 classification for gastrointestinal neuroendocrine tumours correlates well with the metastatic potential of rectal neuroendocrine tumours. *Neuroendocrinology*, 95 (4):317-324.
- Klöppel G. 2003. [Neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract]. *Pathologe*, 24 (4):287-296.
- Klöppel G, Perren A, Heitz PU. 2004. The gastroenteropancreatic neuroendocrine cell system and its tumors: the WHO classification. *Ann N Y Acad Sci*, 1014:13-27.

- Knösel T, Emde V, Schluns K, Schlag PM, Dietel M, Petersen I. 2006. Cytokeratin profiles identify diagnostic signatures in colorectal cancer using multiplex analysis of tissue microarrays. *Cell Oncol*, 28 (4):167-175.
- Knösel T, Emde A, Schluns K, Chen Y, Jurchott K, Krause M, Dietel M, Petersen I. 2005. Immunoprofiles of 11 biomarkers using tissue microarrays identify prognostic subgroups in colorectal cancer. *Neoplasia*, 7 (8):741-747.
- Knösel T, Chen Y, Altendorf-Hofmann A, Danielczok C, Freesmeyer M, Settmacher U, Wurst C, Schulz S, Yang LL, Petersen I. 2012. High KIT and PDGFRA are associated with shorter patients survival in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors, but mutations are a rare event. *J Cancer Res Clin Oncol*, 138 (3):397-403.
- La Rosa S, Inzani F, Vanoli A, Klersy C, Dainese L, Rindi G, Capella C, Bordi C, Solcia E. 2011. Histologic characterization and improved prognostic evaluation of 209 gastric neuroendocrine neoplasms. *Hum Pathol*, 42 (10):1373-1384.
- Lee JL, Yu CS, Kim M, Hong SM, Lim SB, Kim JC. 2014. Prognostic impact of diagnosing colorectal neuroendocrine carcinoma using the World Health Organization 2010 classification. *Surgery*, 155 (4):650-658.
- Modlin IM, Lye KD, Kidd M. 2003. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer*, 97 (4):934-959.
- Modlin IM, Moss SF, Chung DC, Jensen RT, Snyderwine E. 2008a. Priorities for improving the management of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *J Natl Cancer Inst*, 100 (18):1282-1289.
- Modlin IM, Oberg K, Chung DC, Jensen RT, de Herder WW, Thakker RV, Caplin M, Delle Fave G, Kaltsas GA, Krenning EP, Moss SF, Nilsson O, Rindi G, Salazar R, Ruszniewski P, Sundin A. 2008b. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Lancet Oncol*, 9 (1):61-72.
- Morin E, Cheng S, Mete O, Serra S, Araujo PB, Temple S, Cleary S, Gallinger S, Greig PD, McGilvray I, Wei A, Asa SL, Ezzat S. 2013. Hormone profiling, WHO 2010 grading, and AJCC/UICC staging in pancreatic neuroendocrine tumor behavior. *Cancer Med*, 2 (5):701-711.
- Oberndorfer S. 1907. Karzinoide Tumoren des Dünndarms. *Frankfurter Zeitung für Pathologie* 426.
- Pape U, Jann H, Müller-Nordhorn J, Bockelbrink A, Berndt U, Willich S, Koch M, Röcken C, Rindi G, Wiedenmann B. 2008a. Prognostic relevance of a novel TNM classification system for upper gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer*.
- Pape UF, Jann H, Muller-Nordhorn J, Bockelbrink A, Berndt U, Willich SN, Koch M, Rocken C, Rindi G, Wiedenmann B. 2008b. Prognostic relevance of a novel TNM classification system for upper gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer*, 113 (2):256-265.
- Pearse AG. 1969. The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. *J Histochem Cytochem*, 17 (5):303-313.
- Perren A, Schmitt A, Komminoth P, Pavel M. 2009. [Classification of gastro-entero-pancreatic neuroendocrine tumors]. *Radiologe*, 49 (3):198-205.
- Plöckinger U. 2007. Neuroendokrine gastrointestinale Tumoren. 1 Aufl.: UNI-Med Verlag AG, Bremen.
- Ricci C, Casadei R, Taffurelli G, D'Ambra M, Monari F, Campana D, Tomassetti P, Santini D, Minni F. 2014. WHO 2010 classification of pancreatic endocrine tumors. is the new always better than the old? *Pancreatology*, 14 (6):539-541.
- Rindi G, Kloppel G, Couvelard A, Komminoth P, Korner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B. 2007. TNM staging of midgut and hindgut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch*, 451 (4):757-762.
- Rindi G, Kloppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, Eriksson B, Falchetti A, Falconi M, Komminoth P, Korner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B, all other Frascati Consensus Conference p,

- European Neuroendocrine Tumor S. 2006. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch*, 449 (4):395-401.
- Solorzano CC, Lee JE, Pisters PW, Vauthey JN, Ayers GD, Jean ME, Gagel RF, Ajani JA, Wolff RA, Evans DB. 2001. Nonfunctioning islet cell carcinoma of the pancreas: survival results in a contemporary series of 163 patients. *Surgery*, 130 (6):1078-1085.
- Tang LH, Untch BR, Reidy DL, O'Reilly E, Dhall D, Jih L, Basturk O, Allen PJ, Klimstra DS. 2016. Well-Differentiated Neuroendocrine Tumors with a Morphologically Apparent High-Grade Component: A Pathway Distinct from Poorly Differentiated Neuroendocrine Carcinomas. *Clin Cancer Res*, 22 (4):1011-1017.
- THORSON A, BJORCK G, BJORKMAN G, WALDENSTROM J. 1954. Malignant carcinoid of the small intestine with metastases to the liver, valvular disease of the right side of the heart (pulmonary stenosis and tricuspid regurgitation without septal defects), peripheral vasomotor symptoms, bronchoconstriction, and an unusual type of cyanosis; a clinical and pathologic syndrome. *Am Heart J*, 47 (5):795-817.
- Tsikitis VL, Wertheim BC, Guerrero MA. 2012. Trends of incidence and survival of gastrointestinal neuroendocrine tumors in the United States: a seer analysis. *J Cancer*, 3:292-302.
- Velayoudom-Cephise FL, Duvillard P, Foucan L, Hadoux J, Chougnet CN, Leboulleux S, Malka D, Guigay J, Goere D, Debaere T, Caramella C, Schlumberger M, Planchard D, Elias D, Ducreux M, Scoazec JY, Baudin E. 2013. Are G3 ENETS neuroendocrine neoplasms heterogeneous? *Endocr Relat Cancer*, 20 (5):649-657.
- Williams ED, Sandler M. 1963a. CLASSIFICATION OF CARCINOID TUMOURS. *Lancet*, 1 (727):238-&.
- Williams ED, Sandler M. 1963b. The classification of carcinoid tumours. *Lancet*, 1 (7275):238-239.
- Wittekind C. 2005. TNM atlas : illustrated guide to the TNM classification of malignant tumours. 5th Aufl. Hoboken, N.J.: Wiley-Liss : John Wiley.
- Wittekind C. MH-J. 2010. TNM Klassifikation maligner Tumoren. 7 Aufl.: Wiley Blackwell.
- Yang M, Tian BL, Zhang Y, Su AP, Yue PJ, Xu S, Wang L. 2014. Evaluation of the World Health Organization 2010 grading system in surgical outcome and prognosis of pancreatic neuroendocrine tumors. *Pancreas*, 43 (7):1003-1008.

8. Abkürzungsverzeichnis

NEN	neuroendokrine Neoplasie
GEP-NET	gastroentero-pankreatischer neuroendokriner Tumor
P-NET	pankreatischer neuroendokriner Tumor
ENETS	European neuroendocrine Tumor Society
UICC	Union international against cancer
R0	Resektionsränder im gesunden Gewebe
PFS	Progression free survival
OS	Overall survival

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Historische Entwicklung der GEP-NET und der zugehörigen Klassifikationen nach Arnold (Arnold 1997), modifiziert	9
Tabelle 2: WHO Klassifikationen für neuroendokrinen Neoplasien 1980, 2000, 2010 modifiziert nach Anlauf et al. 2011 und Anlauf et al. 2010 (Anlauf 2011, Anlauf et al. 2011) .	13
Tabelle 3: WHO Graduierung für neuroendokrine Neoplasien von 2010: gleichlautend mit den, von der ENETS 2006/2007 vorgeschlagenen Graduierung (Bosman et al. 2010)	14
Tabelle 4: T-Kategorie Appendix und Pankreas der ENETs TNM nach (Plöckinger 2007) ...	16
Tabelle 5: T- Kategorie Appendix und Pankreas der UICC TNM (Wittekind C. 2010)	16
Tabelle 6: TNM- Stadieneinteilung nach (Wittekind C. 2010)	17
Tabelle 7: Lokalisation der Primärtumoren	20
Tabelle 8: Häufigkeit der Tumorsektion in Abhängigkeit von der Fernmetastasierung	20
Tabelle 9: Morphologie der Tumoren nach ICD-O (Fritz 2000)	21
Tabelle 10: Häufigkeit der pT-Kategorie in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primärtumors	24
Tabelle 11: Häufigkeit des pathologischen Stadiums in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primärtumors	25
Tabelle 12: Korrelation der WHO Graduierung von 2010 mit der M-Kategorie des Primärtumors	27
Tabelle 13: Korrelation zwischen der WHO Graduierung von 2010 und der Lokalisation des Primärtumors bei Dünndarm- und Pankreasläsionen	28
Tabelle 14: Korrelation zwischen WHO Graduierung von 2010 und Resektionsrate des Primärtumors	28
Tabelle 15: Korrelation WHO Graduierung von 2010 mit dem Durchmesser des Primärtumors	29

10. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Inzidenz von GEP-NETS nimmt weltweit zu (Tsikitis et al. 2012)	6
Abbildung 2: Ansteigende Inzidenz über den Zeitraum von 1973-2005 (Modlin et al. 2008a)	7
Abbildung 3: Verteilung der Tumordurchmesser von 211 Tumoren	22
Abbildung 4: Verteilung der Ki-67 Werte von 258 Tumoren	22
Abbildung 5: Verteilung der Mitosen pro 10 HPF bei 254 Tumoren	23
Abbildung 6: Unterschiede WHO Graduierung von 2000 zu 2010	26
Abbildung 7: 10-Jahres-Überlebensrate aller Patienten (n=310).....	30
Abbildung 8: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten.....	31
Abbildung 9: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit	32
Abbildung 10: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit	33
Abbildung 11: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten in Abhängigkeit.....	34
Abbildung 12: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der.....	35
Abbildung 13: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit vom Tumordurchmesser	36
Abbildung 14: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten in	37
Abbildung 15: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der neuen WHO Graduierung von 2010.....	38
Abbildung 16: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der Resektion (R0) untersucht am Patientenkollektiv der Graduierung von 2010	39
Abbildung 17: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der Graduierung untersucht am Patientenkollektiv mit Primärlokalisation Pankreas	40
Abbildung 18: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der Graduierung	41
Abbildung 19: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von Ki-67	42
Abbildung 20: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten in	43
Abbildung 21: Beobachtete Überlebensraten aller Patienten in Abhängigkeit.....	44
Abbildung 22: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit von der.....	45
Abbildung 23: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit vom pTNM-Stadium der UICC	46
Abbildung 24: Beobachtete Überlebensraten in Abhängigkeit der WHO Graduierung von 2010 untersucht an G3 Tumoren.....	47

11. Eidesstattliche Versicherung

Eidesstattliche Versicherung

Reiter, Christina Cäcilia
Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Reklassifikation gastroentero-pankreatischer neuroendokriner Tumoren (GEP-NET)
am Pathologischen Institut der LMU München

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Grasbrunn, den 23.03.18
Ort, Datum

Christina Cäcilia Reiter
Unterschrift Doktorandin/ Doktorand

12. Danksagung

Pathologisches Institut der LMU München:
Institutsdirektor: Prof. Dr. med. Thomas Kirchner
Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Knösel

Tumorzentrum München:
Dr. rer.biol.hum Gabriele Schubert-Fritschle

Statistikerin:
PD Dr. med. Annelore Altendorf-Hofmann